UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 N° 6 M

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Michèle GALLON née CHALAFRE

Pharmacien

née le 4 Octobre 1942 à Clermont-Ferrand (63)

Présentée et soutenue publiquement au mois de Septembre 1969

PREPARATION ET ETUDE ENZYMO-PHARMACOLOGIQUE D'ACIDES CHROMONE-CARBOHYDROXAMIQUES-2

Président : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur
M. CLUZEL, Professeur
Mme . MOINADE, Maître de Conférences Agrégé.

CLERMONT - REPRODUCTION
64, avenue Jean Noellet
63 - AUBIERE (1969)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548623_0040

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969 N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Michèle GALLON née CHALAFRE

Pharmacien

née le 4 Octobre 1942 à Clermont-Ferrand (63)

Présentée et soutenue publiquement au mois de Septembre 1969

PREPARATION ET ETUDE ENZYMO-PHARMACOLOGIQUE

D'ACIDES CHROMONE-CARBOHYDROXAMIQUES-2

Président : M. BASTIDE, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur
M. CLUZEL, Professeur
Mme . MOINADE, Maître de Conférences Agrégé.

CLERMONT - REPRODUCTION
64, avenue Jean Noellet
63 - AUBIERE (1969)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE de CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU, M. POMME

I - Professeurs Titulaires

MM.	BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
	BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
	BAUDON	- Clinique Obstétricale
	BERGER	- Chimie Analytique
	BERGERON	- Pathologie Médicale
	COULET	- Botanique et Microbiologie
	CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
	DASTUGUE	- Biochimie Médicale
	DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
	DELAGE	- Anatomie Pathologique
	FEBVRE	- Pharmacie Galénique
	GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
	GRAS	- Clinique Médicale A
	JACQUEMET	- Technique Chirurgicale
	JALLUT	- Séméiologie Médicale
	LATAIX	- Pathologie chirurgicale
	MERCIER	- Anatomie
	MEYNIEL	- Biophysique médicale
	MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
	PETIT	- Médecine Légale et Médecine Sociale
	POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
	POURRAT	- Matière Médicale
Mele	RAMPON	- Thérapeutique
MM.	ROUHER	- Clinique ophtalmologique
	TERRASSE	- Clinique médicale B
	THIEBLOT	- Physiologie
	THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
	TRONCHE	- Pharmacie Chimique
	TURCHINI	- Histologie et Embryologie
	VAURS	- Bactériologie et Hygiène
	WILLEMIN-CLOG	- Clinique médicale infantile

II - Professeurs Titulaires à titre personnel

M.	CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M.	VIALLET	- Electro-Radiologie.
M.	ALFIERI	- Biophysique Médicale

III - Professeurs sans Chaire.

Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
M. CLUZEL	- Bactériologie
M. DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
Mme GAILLARD	- Physique pharmaceutique
M. MENUT	- Pédiatrie et Puériculture
M. PIGNIDE	- Médecine générale

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
Mme POURRAT	- Botanique
M. RAYNAUD	- Pédiatrie
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique.

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orthopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phtisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie.

VI - Délégués dans les fonctions de Maîtres de Conférences.

MM. BOUCHER	- Physiologie
COUQUELET	- Pharmacie chimique
GENTOU	- Biochimie médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et thérapeutique
Mme PETIT	- Chimie pharmaceutique
MM. PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal	: M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque	: M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

AVANT - PROPOS

En ce début de notre travail, nous tenons à témoigner notre profonde reconnaissance à tous nos Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

Nos remerciements vont plus particulièrement :

à notre Maître, Monsieur le Professeur BASTIDE qui a bien voulu nous accueillir dans son Laboratoire, a inspiré le sujet de cette thèse et nous a sans cesse dirigé et guidé dans nos recherches ; qu'il trouve ici l'expression de notre profonde admiration et de notre respectueuse gratitude.

à notre Maître , Monsieur le Professeur TRONCHE qui a partagé lui aussi, la direction de ce travail, et dont la bienveillance nous a fait apprécier ses grandes qualités humaines et scientifiques.

Nous assurons Monsieur le Professeur CLUZEL de notre respectueuse gratitude pour avoir bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Nos remerciements vont également à Madame le Professeur Agrégé MOINADE. Nous l'assurons de notre profonde reconnaissance.

Que Monsieur le Professeur Agrégé COUQUELET soit assuré de notre reconnaissance pour l'aide et pour l'amitié dont il nous a entouré.

Que notre ami, Marc PAILLARD reçoive ici toute notre reconnaissance.

Nous tenons à associer ici dans une même pensée nos camarades d'études ainsi que tout le personnel du Laboratoire de Chimie Biologique et Pharmacodynamie et du Laboratoire de Pharmacie Chimique de notre Faculté.

INTRODUCTION

Ce travail a été conçu et élaboré dans le cadre de la collaboration de deux Laboratoires qui depuis plusieurs années unissent leurs efforts dans le domaine de la Chimie thérapeutique et des corrélations entre la structure moléculaire et l'activité biologique. Commencé au Laboratoire de Pharmacie Chimique où sont réalisées les molécules à visées thérapeutiques, il a été poursuivi au Laboratoire de Chimie Biologique et Pharmacodynamie, où nous avons poursuivi des études qui ont grandement valorisé la partie chimique.Le choix lui-même de ce sujet résulte à la fois de considérations chimiques, biochimiques et pharmacodynamiques. Les acides chromones carboxyliques ont fait l'objet d'études communes de nos Maîtres qui ont pu en montrer la parfaite innocuité, l'importante activité sur la perméabilité des capillaires, les effets analgésiques et sédatifs. Nous avons pensé que ces composés pourraient fournir une base de départ intéressante pour l'élaboration de molécules plus originales, susceptibles d'applications thérapeutiques.

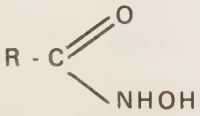
Notre attention s'est portée sur l'introduction d'une fonction "acide hydroxamique", car une telle fonction ne se rencontre qu'exceptionnellement dans les médicaments, bien qu'elle semble être le support de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacodynamiques. C'est en particulier, l'activité manifeste des hydroxamates sur de nombreuses actions enzymatiques qui a décidé de notre choix.

Nous exposerons dans une première partie bibliographique les aspects chimiques des acides hydroxamiques : préparation, propriétés analytiques, réactivité puis les activités biochimiques et pharmacodynamiques de ces composés. Dans la deuxième partie, nous exposerons nos travaux personnels, d'abord sur le plan de la synthèse de l'acide chromone, carbohydroxamique-2 et de quelques dérivés puis sur le plan de l'étude pharmacologique et enzymologique.

PREMIERE PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

I - LES ACIDES HYDROXAMIQUES EN CHIMIE

Un Acide hydroxamique 

est un dérivé fonctionnel d'un acide carboxylique car le groupement -OH de la fonction acide est remplacé par un autre groupement X. Il peut être hydrolysé et régénérer l'acide de départ (209).

La comparaison du spectre infra-rouge des oximes et des acides hydroxamiques conduit à représenter ces derniers comme des N-acyl-hydroxylamines (146). La nomenclature leur attribue le nom générique de l'acide, suivi du suffixe hydroxamique ou carbohydroxamique (204).

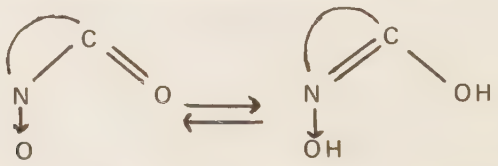
A - ETAT NATUREL -

La présence d'acides hydroxamiques a été récemment mise en évidence dans diverses familles de composés naturels ; il s'agit toujours de composés complexes.

Dans les cas des Fusarinines A et B, SAYER et EMERY ont mis en évidence des acides hydroxamiques engagés dans des combinaisons complexes avec l'ornithine et des restes hydroxy-5, méthyl-3, pentanoïque (218) ; de plus de tels acides hydroxamiques sont chelatés par le fer.

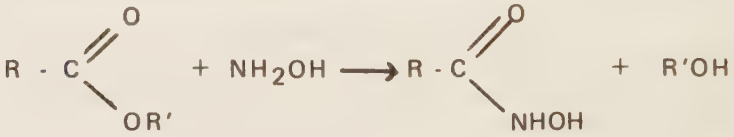
D'autres composés naturels sont représentés par des acides hydroxamiques à structure cyclique. Il convient plutôt alors de parler d'hydroxypyrazines, d'hydroxybenzoxazines (47, 242, 180). Dans les grains de maïs, en particulier, TIPTON (242) a isolé sous forme de glucosides trois acides hydroxamiques cyclisés présentant la structure de benzoxazines - 3 ones. C'est encore des germes de maïs, de seigle et de blé qu'on a pu isoler par fractionnement sur Sephadex (104) des glucosides de dihydroxy 1,4 benzoxazines.

Du point de vue purement chimique, COUTTS (47) a souligné au cours d'une revue d'ensemble des acides hydroxamiques d'origine naturelle ou synthétique, l'isomérie du type.

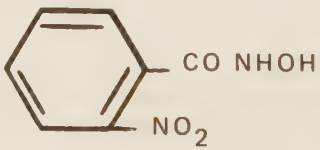


B - PREPARATION DES ACIDES HYDROXAMIQUES

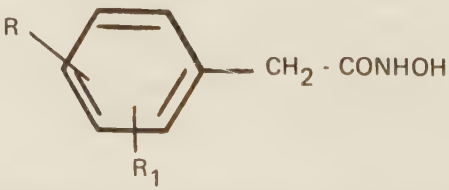
Le procédé le plus généralement utilisé consiste à traiter un ester d'acide aliphatique, aryl aliphatique ou arylique par l'hydroxylamine en milieu neutre, ou mieux, alcalin selon la réaction générale :



C'est par cette méthode que KOCHETCKOV (126) prépare l'acide acéthydroxamique et propiolhydroxamique à partir des esters éthyliques correspondants. DUTTA (58) obtient par le même procédé les acides hydroxamiques correspondant aux acides nitrobenzoïques.



Il détermine les constantes de dissociation des deux séries d'acides, en comparant entre elles les constantes de dérivés homologues. Dans des brevets récents, nous trouvons la description de la préparation d'acides aryl acéthydroxamiques (178) à partir des esters correspondants



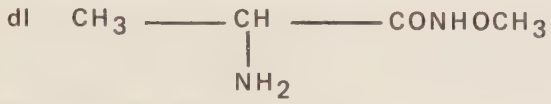
ainsi que l'application d'un procédé analogue au cas d'acides plus complexes comportant une chaîne hydrocarbonée insaturée

plus ou moins longue, entre le cycle aromatique et la fonction acide hydroxamique (180).

L'action de l'hydroxylamine est aisée sur des acides gras à longue chaîne (237) ; elle se produit même lorsque les esters d'acides gras sont fixés sur des supports tels que les fibres du coton ou les plaques de chromatographie.

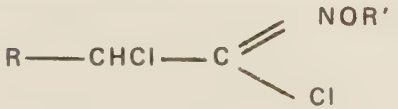
Les esters d'acides insaturés tels que l'acide métacrylique ou l'acide crotonique réagissent avec la même facilité sur l'hydroxylamine (228).

On peut encore accéder aux acides hydroxamiques à partir d'autres dérivés de la fonction acide. C'est ainsi que KHOMUTOV (119) obtient des esters d'acides aminocarbohydroxamiques, en traitant des anhydrides d'aminoacides par CH_3ONH_2. L'alanine fournit dans ce cas le composé :



L'hydroxylamine réagit également comme l'ont montré des auteurs soviétiques sur la rosine ou l'anhydre abiétique (235). Elle semble aussi réagir facilement avec certaines lactones telles que la trichlorométhyl - propiolactone utilisée par LUKNITSKI (139). Les ultra-sons peuvent exercer un effet favorisant dans la formation des hydroxamates à partir d'acides aminés et d'hydroxylamine (65). Les chlorures d'acides peuvent être également transformés en acides hydroxamiques par l'hydroxylamine comme cela s'observe pour l'acide 3 [nitro - 5, furyl - 2] acrylique (182).

Ce sont des réactions plus complexes qui se produisent lorsque l'on traite à basse température, dans l'éther, tenant en suspension du bicarbonate de sodium, des chlorures d'acides par des dérivés substitués de l'hydroxylamine (202) Ce procédé est notamment applicable aux dérivés arylés de l'hydroxylamine. On peut rapprocher de ce type de réaction celle que donnent les nitrooléfins tels que le nitro-1, propène-1 traité par des chlorures d'acides en présence de chlorure de zinc. Les produits obtenus sont dans ce cas des acides α chloro-N acyl hydroxamiques sous forme de chlorure (129).



Ce type de réaction peut à son tour être rapproché (124) de la préparation d'acides hydroxamiques N substitués à partir de composés insaturés et de chloroperfluoronitrosoalkanes.

Signalons la formation possible d'acides hydroxamiques à partir de carbures saturés (38) traités par l'acide nitrique concentré dans des conditions bien définies. Certains esters d'acides naturels : érucique, brasidique (268) ricinoléïque (269), donnent naissance aux acides hydroxamiques correspondants par le même procédé. Nous citerons encore la préparation d'acides carboxyalkyl-hydroxamiques (109) et d'acides bromosalicylhydroxamiques (60).

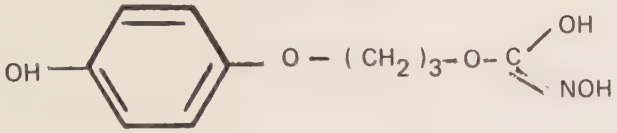
Lorsque l'on fait agir l'hydroxylamine sur des diesters de diacides, on peut obtenir semble-t-il soit un acide monohydroxamique comme dans le cas du malonate de dihexyle (168) soit au contraire un acide dihydroxamique : c'est le résultat obtenu par NAZAROVA (160) à partir de l'ester diméthylique de l'acide succinique.

Les anhydrides mixtes traités par l'hydroxylamine fournissent un mélange de deux acides hydroxamiques (257) La composition du mélange est variable et dépend notamment de la réactivité des acides. Dans d'autres cas, les diacides qui donnent naissance à des acides monohydroxamiques du type (107, 108) :

subissent secondairement un réarrangement et se polymérisent en polypeptides.

Les acides flucono, galacto, rhamno et arabino hydroxamiques réagissent facilement avec les amines (145). Les hydroxylamines substituées (238) réagissent avec les chlorures d'acides, au sein de la pyridine, pour donner des acides N arylhydroxamiques. L'hydroxylamine non substituée peut, dans certaines conditions, réagir avec le dihydrofurane ou la dihydropyridine (116) et conduire à des acides hydroxamiques cycliques. A côté de l'hydroxylamine substituée, on peut utiliser d'autres dérivés tels que le N-hydroxyuréthane qui, par action sur des éthers en présence d'éthy-

late de sodium, a conduit BERGER (163) à des acides pl noxypropyl carbetoxyhydroxamiques.



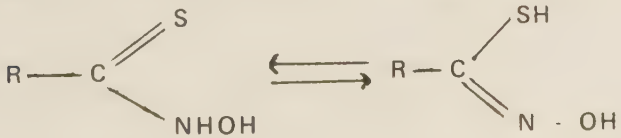
Nous citerons enfin l'obtention par STAAB (231) et par HUISGEN (106) d'acides hydroxamiques à partir d'imidazolides d'acides carboxyliques, traités à froid, dans le tétrahydrofurane, par le chlorhydrate d'hydroxylamine. Il y a élimination de chlorhydrate d'imidazoline. Cette réaction semble intéressante dans le cas où les esters sont difficilement accessibles alors que l'on peut disposer des chlorures d'acides

Les acides hydroxamiques sont des molécules assez stables pour se prêter à certaines transformations. Nous citerons en particulier, l'alcoylation du groupement -NHOH, par action d'halogénures (51). CSTASZYNSKI obtient ainsi des dérivés du type :

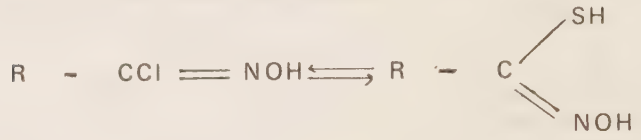
KATAOKA (184) effectue une substitution d'halogènes sur un noyau aromatique d'acides hydroxamiques sans altérer la molécule. COOLEY prépare facilement des dérivés N ou O alcoylés, par action d'halogénures d'alcoyle sur des sels de sodium (42) d'acides hydroxamiques.

L'action de l'hydroxylamine s'exerce encore sur des polymères, tel que le copolymère : styrène - anhydride maléique (39) aboutissant dans ce cas à des acides polyhydroxamiques. Elle s'exerce enfin sur des molécules complexes comme l'acide lysergique (181).

Il nous faut évoquer la préparation spéciale des acides thiohydroxamiques qui a intéressé quelques auteurs. MIZUKAMI (151) les obtient à partir des esters des thioacides et action de l'hydroxylamine.

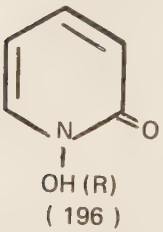


On peut également faire réagir le sulfure acide de sodium sur des oximes surchlorées (7):

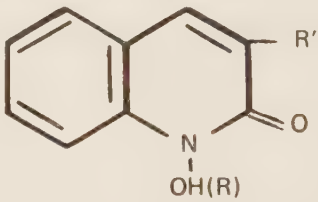


Le thioglycolate d'éthyle fournit un acide thioacéthydroxamique qui peut être isolé sous forme de sel de cuivre (130).

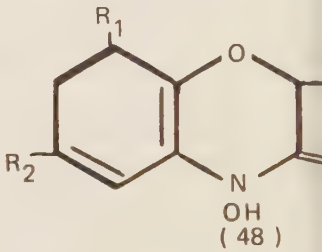
Il existe enfin une chimie difficile sur laquelle nous n'insisterons pas car elle sortirait du cadre de notre exposé, c'est celle des acides hydroxamiques cycliques. Ceux-ci répondent aux schémas généraux suivants :



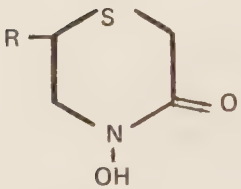
(196)



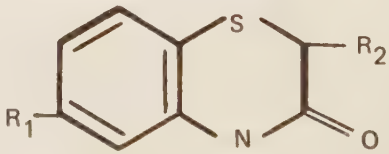
(196,190)



(48)



(37)



(51)

Les méthodes d'accès à de tels hétérocycles empruntent des voies extrêmement variées qui passent souvent par des dérivés aromatiques orthonitrés (50, 48, 190). L'emploi de N-oxydes est cité dans un brevet UPJOHN (196).

Les acides leucine et isoleucine hydroxamiques (214) se prêtent facilement à des cyclisations en formant des dérivés de la pyrazine.

C - UTILISATION DES ACIDES HYDROXAMIQUES EN SYNTHESE ORGANIQUE.

La fonction acide hydroxamique peut se prêter à un certain nombre de transformations sous l'influence de réactifs chimiques.

C'est ainsi que l'on obtient facilement des dérivés N-acylés par action des anhydrides d'acides (170). Des dérivés O-alcoylés sont obtenus en faisant réagir l'acide monochlore acétique sur les dérivés de l'acide salicylhydroxamique (51). Les phényls isocyonates Ph NCO donnent avec les acides hydroxamiques des produits d'addition sur l'azote du type (43).

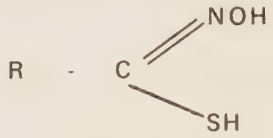
R - CO - N (OR') - CONHPh

Les pyrazoles dicarbohydroxamates (13) sont transformables pour BAUER en pyrazolo N hydroxyuraciles. Inversement (273) des esters O-acylés d'acides hydroxamiques peuvent être coupés avec mise en liberté d'hydroxylamine O-acylée.

Les acides hydroxamiques peuvent être transformés en amines par différents procédés. La réduction par les hydrures bimétalliques dans le tétrahydrofurane a été réalisée par WINTERNITZ (263) avec production d'amines primaires. Une réaction très analogue peut être réalisée en faisant réagir à froid et à pH 5 (103), un carbodiimide. Le mécanisme d'une telle réaction a même été établi. L'hydrogénation catalytique en présence de nickel de RANEY a permis à HARINATH (92) d'obtenir, à partir des acides hydroxamiques correspondants et avec un rendement de 70 p. cent les amides lauriques, myristiques, stéariques et oléiques. Les acides stéarylhydroxamiques peuvent être réduits en dérivés amino-alkylés que l'on a pu secondairement quaterniser en sels bactéricides (162).Les acides hydroxamiques peuvent intervenir comme termes de passage dans des synthèses plus compliquées. C'est le cas notamment des cyclisations aboutissant à la formation de cycloserine. Deux voies sont décrites dans la littérature l'une utilisant l'acide αamino -αacétyl - βchloro, propiohydroxamique (164), l'autre utilisant l'acide αbenzamido-βarylacryl hydroxamique (127).

La deuxième voie de recherche dans laquelle nous avons relevé trois publications récentes, concerne l'emploi des acides O aryl benzhydroxamiques (85) et des acides pivaloyl hydroxamiques (203, 86) dans la synthèse des peptides.

D'autre part, les acides thiohydroxamiques (158)



réagissent à la manière des thiols et conduisent facilement suivant les conditions expérimentales à des dérivés alcoylés sur le soufre et l'oxygène.

Parmi les remaniements qui peuvent s'opérer à partir des acides hydroxamiques, nous avons relevé la transformation en urée disubstituée (35) des acides dihydroxamiques, chauffés dans des liquides anhydres et notamment dans le dioxane.

Signalons encore que l'acide salicylhydroxamique est assez stable pour se prêter (248) à une bromuration nucléaire en position 5 par simple action du brome dans l'acide acétique.

D - ETUDES CHIMIQUES DIVERSES EFFECTUEES SUR LES ACIDES HYDROXAMIQUES.

Il est difficile de résumer dans ce paragraphe un certain nombre de travaux, tous récents, mais se rapportant à des aspects chimiques très variés. Tous concernent le comportement chimique, physique ou la réactivité des acides hydroxamiques.

Nous citerons les études physico-chimiques (69) portant sur les constantes de dissociation de 49 acides hydroxamiques aromatiques et de leurs dérivés O et N alcoylés, L'effet des substituants nucléaires a été recherché au moyen de l'équation de HAMMETT. Des études polarographiques ont été faites sur des dérivés d'acides gras (270).

Pour EPSTEIN (67) les acides hydroxamiques appartiennent à une classe de nucléophiles, appelés α-nucléophiles, qui ne montrent aucun effet de charge par rapport aux nucléophiles de même classe, mais dépourvus de groupements cationiques dans la molécule. KWART constate que la nature des substituants modifie la réactivité des hydroxamates en particulier, leur attaque nucléophile (171).

L'oxydation des acides hydroxamiques par le ferricyanure en milieu alcalin libère des radicaux anioniques dont on a fait des études par résonnance électrique de SPIN (153).

Les hydroxamates de chrome se comportent comme catalyseurs photochimiques vis à vis de polyoléfins (177). Cette sensibilité à la lumière se retrouve dans l'utilisation (52) d'acides hydroxamiques pour la synthèse de lactones par photolyse.

Nous citerons encore les études structurales concernant la configuration d'acides hydroxamiques soufrés (70) ou d'hydroxamates intramoléculaires (144) ou de thiodérivés (166).

L'interaction des polymères et des groupements hydroxamiques a été développée dans le cas des dérivés de la cellulose (253) et des composés glucidiques (187). Enfin, parmi les réactions complexes auxquelles conduisent certain acides hydroxamiques, nous mentionnerons la préparation de N-acétyl, isoxazoline (63) ainsi que l'obtention de phénylhydrazides après remaniement important de la molécule (156).

La constante d'équilibre dans la formation d'acides alkylhydroxamiques en C_2, C_6, C_8 est voisine de 1 à 25° alors qu'elle n'est que de 0,04 pour l'acide N-acétyltyrosine-hydroxamique (115).

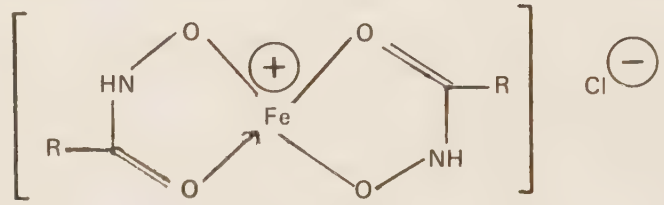
Il est curieux de constater l'influence de certains acides alkylhydroxamiques peu condensés en carbone sur l'hydrolyse d'esters d'acides faibles et sur l'hydrolyse de composés organophosphorés (6, 165).

E - LES EFFETS CHELATEURS DES ACIDES HYDROXAMIQUES.

Les acides hydroxamiques ont une grande aptitude à former des complexes métalliques ou chelatés avec de nombreux métaux lourds. Ces complexes ont reçu des applications industrielles, comme procédé d'extraction de métaux rares (59) ou comme catalyseurs. Certains procédés sont l'objet de brevets (84).

Le fer est le métal qui se lie le plus facilement à de nombreux acides hydroxamiques formant des complexes solubles

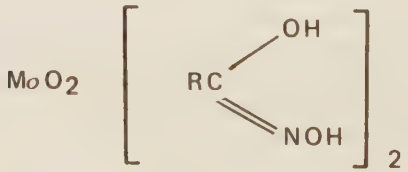
(186) dont la préparation est décrite dans la littérature et les brevets.



Certains acides, tels que l'acide acrylhydroxamique auraient même une affinité sélective pour les ions ferriques (44). Il existe même des complexes ferriques naturels, comme la substance mise en évidence par BAYERS (31) et dénommée *Schizokinine* (SK) qui agit sur la division cellulaire de *Bacillus megaterium* ATCC 19213

Les chélates cuivriques ont été bien étudiés notamment dans le cas des polymères (193, 266). YAMAMOTO (266) a déterminé les constantes de stabilité des chelates cuivriques d'acides polyacrylhydroxamiques. Le même auteur a étudié l'effet catalytique de tels chélates sur la décomposition du perhydrol à pH 6 (267). Il a observé que la constante de MICHAELIS varie avec le polymère utilisé. Des études très analogues ont été faites par TSUNENORI (193, 95) elles ont été étendues à des dérivés chloroacryliques. MAJER (142) a réalisé des études spectro-photométriques, potentiométriques et électrophorétiques des complexes ferriques et cuivriques donnés par les acides aminoacéthydroxamiques.

Parmi les autres métaux ou dérivés métalliques susceptibles de se complexer, citons l'oxyde de vanadium (57), le thorium, l'uranium et le plutonium (9). L'oxyde molybdène MoO_2 donne des complexes du type dioxomolybdène (56) en solution aqueuse à pH 3.



Le titane donne lui aussi des complexes dosables par gravimétrie (81).

Dans ces divers exemples, l'agent chélatant est le plus souvent un acide benzhydroxamique, mais on peut aussi trouver

des acides plus complexes tels que l'acide succinyl bis [N phényl hydroxamique] (82).

L'effet chélateur des acides thiohydroxamiques est comparable à celui des dérivés non soufrés. NAGATA et MISUKAMI (159) estiment qu'il n'en va pas de même pour les acides méthyl-thiohydroxamiques.

NAGATA a réalisé diverses études physico-chimiques de ces complexes : pKa, spectre I.R., RMN (157).

Ce pouvoir chélateur peut être étendu non seulement aux acides thiohydroxamiques mais encore à des analogues structuraux des acides hydroxamiques tels que les N hydroxycarbamates (152). Les composés azotés chélateurs ont des applications industrielles comme agents stabilisants. Parmi eux, les acides hydroxamiques (221) ont été proposés pour la stabilisation des huiles comestibles et l'hydroxamate de nickel (176) dans la stabilisation des polyoléfins.

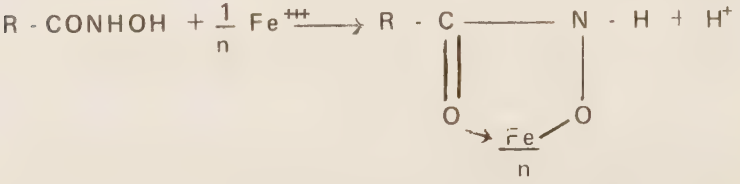
F – LES ACIDES HYDROXAMIQUES EN ANALYSE.

L'utilisation des acides hydroxamiques en analyse découle directement de leur pouvoir chélateur puisque la majorité des références concernent des dosages de fonction ester par évaluation photométrique d'hydroxamates ferriques obtenus à partir de ces esters. Les complexes ferriques sont généralement fortement colorés en rouge ou en violet ce qui permet une détection à l'état de traces.

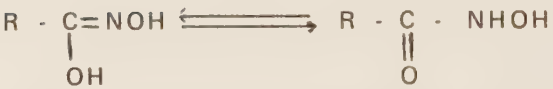
Une telle méthode est applicable non seulement à des dosages de composés organiques proprement dits tels que le formiate de méthyl (118) les esters volatils (240), la procaïne (215) mais encore à des dosages biologiques nombreux. Les plus connus concernent les cholinestérases(199), les acides gras des huiles essentielles (201), les acides gras du sérum (102), les acides gras des triglycérides, des phosphatides et des stérols (5, 198), les groupements esters de la pectine (147), les groupements carbonylés de la cellulose et de l'oxycellulose (232).

Le plus souvent l'opération consiste à faire réagir l'hydroxylamine sur les composés à fonction ester et à révéler les acides hydroxamiques par une solution de perchlorate de fer ; mais d'autres modalités ont été proposées telle que l'absorption de l'excès d'hydroxylamine sur résines échangeuses

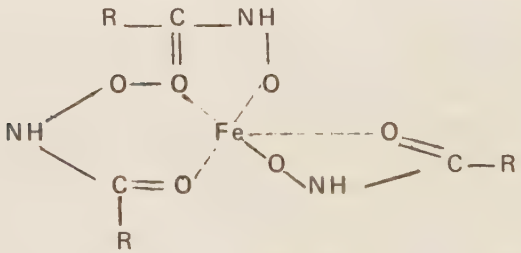
cationiques (80), l'emploi d'ions métalliques divers (10) dans des conditions variées de pH, la détermination polarographique des acides hydroxamiques (195) sans réactions colorées. Le mécanisme de la réaction et de la formation du complexe serait le suivant selon TEZEZ, POIRIER (239) :



L'acide hydroxamique existe sous forme tautomère :



On attribue au complexe formé la structure suivante :



Dans le cas de mélange d'acides hydroxamiques on peut combiner chromatographie sur papier (110, 5, 241) ou sur colonne de silice (194, 87) ou sur couche mince (140, 234, 243), avec la colorimétrie. On peut soit chromatographier directement les acides gras (243) sur couche mince de silice puis les transformer *in situ* en hydroxamates ferriques, soit chromatographier les acides hydroxamiques eux-mêmes (140, 234). Une telle technique a été appliquée en particulier à la séparation des acides gras naturels dans les huiles végétales et dans les graisses animales (54). FISHBEIN (234) utilise comme révélateur des vapeurs de chlore qui révèlent des spots bruns de dérivés hydroxamiques chlorés.

On a proposé de doser les acides hydroxamiques dans les milieux biologiques en les oxydant en nitrites par l'iode, secondairement les nitrites formés servent à diazoter le sulfanilamide (189) ; la révélation est faite sous forme de copulation avec une amine. Un tel procédé aurait l'avantage de différencier l'hydroxylamine et les acides hydroxamiques.

Un cas particulier est celui des acides hydroxamiques disubstitués qui ont été proposés (36) dans le dosage du vanadium au lieu et place de la benzoyl phénylhydroxylamine.

Il en est de même des complexes hydroxamiques des acides dicarboxyliques (72) pour lesquels, d'une manière très inattendue, les réactions colorées sont moins intenses qu'avec les acides monocarboxyliques, tout au moins lorsque les fonctions acides sont relativement proches l'une de l'autre.

La pilocarpine peut être dosée dans les préparations pharmaceutiques et notamment dans les collyres par transformation de la fonction lactone en hydroxamate (26) puis révélation par les sels ferriques. Cette réaction est à la fois sensible et fidèle mais peut être gênée par la présence de composés à fonction ester.

La réaction des hydroxamates ferriques a encore été étendue à d'autres composés carbonylés tel la formaldéhyde (89) qui fournit un acide formhydroxamique colorable par les sels ferriques, réciproquement on a proposé de doser le fer ferrique des solutions acides fortes (255) en le complexant avec l'acide formhydroxamique.

Signalons enfin, l'utilisation de la réaction pour doser l'hydroxylamine (90) même à l'état de traces de l'ordre du microgramme, soit pour doser les oximes après hydrolyse et libération d'hydroxylamine (254).

Certains auteurs ont proposé de remplacer la détermination colorimétrique des acides hydroxamiques à longue chaîne (210) par leur hydrolyse au moyen de l'éthanol chlorhydrique et titration de l'excès d'acide chlorhydrique.

II - LES ACIDES HYDROXAMIQUES EN BIOCHIMIE

Le schéma général de la classification adopté pour cet exposé est établi selon " *Enzyme Nomenclature Recommendations* " (*1964*) *de l'International Union of Biochemistry on the Nomenclature and classification of Enzyme* (*66*).

Divers aspects des acides hydroxamiques en biochimie sont rencontrés dans la littérature qu'il s'agisse de la transformation de ces produits dans les milieux biologiques, de leur interaction avec les macromolécules telles que l'acide désoxyribonucléique et surtout de leur interférence avec les réactions enzymatiques. C'est ce dernier point important, car il touche au mécanisme interne de la cellule vivante, que nous nous proposons d'étudier.

Les différents mécanismes enzymatiques qui président au métabolisme des acides hydroxamiques dans les tissus de l'organisme ne vont pas uniquement dans le sens du catabolisme de ces produits, ils peuvent en effet, participer à la synthèse, à la libération et bien sûr à la détoxication ou la dégradation de ceux-ci.

A - BIOSYNTHESE ET DEGRADATION DES ACIDES HYDROXAMIQUES DANS L'ORGANISME.

Les extraits de foie jouent un rôle important dans la biogénèse des acides hydroxamiques. C'est ainsi que BERGMANN et WURZEL (17) indiquent que les esters du glycocolle et en particulier le glycinate d'éthyle sont convertis en acide glycine hydroxamique par l'hydroxylamine en présence d'estérase (3.1.) de foie de chien.

Pour LEVINTON et MEISTER (136) les extraits de foie de pigeon ou de cerveau de mouton participent à la synthèse enzymatique de l'acide glutamylhydroxamique, à partir de l'acide d ou l glutamique. D'après ELLIOT (64)

les microsomes du foie de cobaye peuvent transformer l'acide cholique en dérivés hydroxamiques par un mécanisme auquel participe le coenzyme A.

Les enzymes pouvant entamer la formation d'acides hydroxamiques sont nombreuses : WILSON et coll.(259) constatent que les cholinestérases (3.1.1.7., 3.1.1.8.) favorisent leur formation à partir d'acétyl ou de butyrylcholine, de même à partir d'amides ou de peptides. Cette biosynthèse est également possible sous différentes influences enzymatiques, SLAVIK et coll. (226, 227) remarquent l'action de la glutathionase (3.4.4.), des protéases comme la pepsine (3.4.4.1.) la trypsine (3.4.4.4.) , la papaïne (3.4.4.10), actions vérifiées expérimentalement par TALAFAN et coll. (236) et enfin de l'acétylchymotrypsine (3.4.4.5.) étudiée par BALLS et ALDRICH (8). GROSSOWICZ et coll. (88) signalent un mécanisme de formation analogue à partir de la glutamine et de l'asparagine, cette formation n'est pas modifiée par l'acide ribonucléique.

MEISTER (148) d'autre part, constate qu'une fraction d'amidase (3.5.1.4) extraite du foie de rat catalyse la formation d'acide succinylhydroxamique et glutoxylmonohydroxamique, à partir des amides correspondantes.

De même l'asparaginase (3.5.1.1) de sérum de cobaye et la glutaminase *d'Escherichia Coli* catalysent la formation d'acides hydroxamiques à partir d'asparagine et de glutamine.

SOMERVILLE et ELFORD (229) décèlent sur une souche K 12 de *Escherichia Coli* une anthranilate synthétase (6.3) qui favorise la formation d'acides hydroxamiques dans un système rassemblant l'acide chorismique, la glutamine, l'hydroxylamine, le chlorure de magnésium et l'E.D.T.A. au sein d'un tampon tris. IVALDI et PONTREMOLI (113) notent que l'incubation d'un sel de potassium d'acide gras, avec de l'extrait pancréatique et de l'A.T.P., donne naissance à un acide hydroxamique.

Ce rôle important de l'A.T.P. a été retrouvé par SRERE et LIPMANN (230) qui l'associent à l'hydroxylamine et au coenzyme A en présence d'extraits acétoniques de foie de pigeon et constatent que ce mélange conduit à la production d'acides hydroxamiques.

COOLEY et coll. (42) remarquent la transformation des acétates et des acides gras en acides hydroxamiques en présence de coenzyme A.

Des phénomènes de détoxication des acides hydroxamiques ont été relativement peu étudiés, LOTLIKAR (138) montre que la N-O-méthylation des acides hydroxamiques, peut s'effectuer par transfert de méthyl grâce à des systèmes enzymatiques présents dans les fractions surnageantes de broyat de foie de rat après centrifugation, ce transfert de méthyl a été notamment vérifié pour des acides benzyl, propio et caprohydroxamique.

Parfois, enfin les enzymes participent à la dégradation des acides hydroxamiques dans l'organisme. C'est le cas d'une nicotinamidase (3.5) de levure qui, comme le note BERNHEIM (18) hydrolyse l'acide nicotylhydroxamique.

B - LES ACIDES HYDROXAMIQUES COMME EFFECTEURS ENZYMATIQUES.

Les acides hydroxamiques peuvent avoir un effet inhibiteur sur les enzymes. C'est, d'après FIUME (73) par cette action inhibitrice sur la lactate déshydrogénase (11. 1.2.7) que les acides hydroxamiques agissent sur la croissance de tumeurs ascites.

D'après SEVERIN et coll. (222) le méthyl N-carboxybenzhydroxamate de la glycine est un inhibiteur spécifique et efficace des enzymes contenant le pyridoxal 5 phosphate.

L'ester méthylique de l'acide glycine hydroxamique inhibe l'alanine transaminase (2.6.12) et l'ester benzylique du même acide inhibe la phénylalanine transaminase (2.6.) Ces actions paraissent relativement spécifiques et ne sont pas retrouvées sur d'autres transaminases. HASE et KOBASHI (93) ont étudié le bloquage de l'uréase (3.5.1.5) extraite de proteus vulgaris par les acides caproyl et benzhydroxamiques. L'influence du pH, de la température et du temps a également été envisagée ainsi que celle des substituants nucléaires en position ortho et para. Ces mêmes auteurs (94) ainsi que WAID et PUGH (256) indiquent que les acides acéthydroxamiques et benzhydroxamiques inhibent l'activité de l'uréase et empêchent l'hydrolyse de l'urée aussi bien *in vivo qu'in vitro*. Dans ce dernier cas, l'inhibition est complètement levée par le borohydrure de sodium. Les acides hydroxamiques seraient réduits, dans les conditions physiologiques par le borohydrure de sodium et c'est l'acide borique formé qui lèverait l'inhibition de l'activité enzymatique en

formant un complexe BO_3H_3 - acide hydroxamique (1.2) dont l'existence a été démontrée par spectrographie. KOBASHI et coll. (125) poursuivant leur étude constatent que l'uréase (3.5.1.5) est l'objet d'une inhibition puissante par les acides alkylhydroxamiques qui forment avec l'enzyme un complexe cristallisé inactif. L'activité est recouvrée par traitement d'une heure en milieu légèrement alcalin en présence de thioglycolate de sodium. (223)

De nombreuses activités enzymatiques peuvent être modifiées comme le note GALE (75) qui remarque l'effet inhibiteur dans la synthèse de l'A.D.N. au niveau des cellules de la tumeur ascite d'ERLICH des acides salicyl, oxamylhydroxamiques.

Ce même auteur (76) a entrepris en 1968 l'étude systématique d'acides benzhydroxamiques substitués sur le noyau par un ou plusieurs groupements -OH $-NH_2$ ou halogénés. Il a montré également que le dérivé salicylé présente une sélectivité d'action qui peut atteindre 80 p. cent d'inhibition dans des mécanismes enzymatiques précités, les composés hydroxylés en position 4 sont peu actifs ; de plus l'effet inhibiteur disparaît par simple lavage des cellules à l'aide d'un milieu de culture frais. L'A.D.N. préexistant n'est pas dépolymérisé par les acides hydroxamiques, l'acide uridilique n'est pas non plus dégradé, tout au moins par des valeurs de pH comprises entre 4 et 11, par l'acide acéthydroxamique ou propionylhydroxamique comme le notent KOCHETKOV et coll. (126).

Mais les acides hydroxamiques n'agissent pas toujours dans le sens d'une inhibition. C'est ainsi que SAYER et EMERY (218) étudient les Fusarinines A et B qui se comportent comme des facteurs de croissance vis à vis de *Arthrobacter J.C. 9.* LISAT et PRAT (56) d'autre part, montrent que l'Albacycline, hydroxamate ferrique naturel apparenté à l'alanine, stimule la croissance d'*Algus Scenedesmus obliquus* (137).

Enfin, le rôle protecteur des acides hydroxamiques à fonction ammonium quaternaire a été mis en lumière par WILSON (258) qui note l'action de l'acide nicotinylhydroxamique iodométhylé (260) vis-à-vis des estérases du sérum humain bloquées par les organo-phosphorés.

III - LES ACIDES HYDROXAMIQUES EN PHARMACODYNAMIE

A - EFFET ANTIBACTERIEN, ANTIFONGIQUE, ANTIVIRAL.

Certains acides hydroxamiques apparentés à des molécules connues pour leur effet antibactérien manifestent eux-mêmes une puissante activité.

Ainsi en est-il des hydroxamates alcalins de pénicilline (200) qui gardent leur activité en solution aqueuse pendant douze jours au lieu de trois jours pour les sels ordinaires.

Les acides hydroxamiques cycliques du groupe des quinoléïnes (49) présentent des propriétés anti-bactériennes qui sont influencées par la nature et le nombre des substituants. Il en est de même des dérivés de la naphtyridine (41).

L'hydroxyamide de l'acide 3 [nitro-5, furyl-2, acrylique] inhibent la croissance *d'Escherichia Coli et Staphylococcus aureus* à la concentration de 5 mcg par ml (182). Ces germes sont aussi inhibés par des acides cycliques (224) qui prennent naissance à partir du bromo-2 pyridine.

L'acide salicylhydroxamique (247) et ses dérivés sont de puissants agnets tuberculo-statiques. Ces propriétés se rencontrent également dans des composés très divers tels que l'acide o-(hexadiényl 2-4) sorbohydroxamiques (185) les acides salicylhydroxamiques mono ou polyhalogénés (30, 245, 249, 246). L'activité antituberculeuse de ces composés a été testée à la fois *in vitro* et *in vivo* sur le cobaye. Des essais de traitement de la tuberculose pulmonaire ont même été réalisés chez l'homme, cependant pour certains auteurs (135), l'activité antituberculeuse reste douteuse.

Dans le même ordre d'idées, on a préparé et testé les dérivés hydroxamiques correspondants à divers tuberculostatiques de synthèse (P.A.S., izoniazide, cyclosérine) (78).

L'acide oxamyl hydroxamique (74) inhibe la croissance de *Escherichia Coli* à 50 p. cent ainsi que celle d'autres germes gram négatif : *pseudomonas, proteus, aerobacters, alcaligènes.* Ce dérivé a peu d'effet sur les germes gram positif et les champignons pathogènes. Son action s'exercerait au niveau de la synthèse protéïque et de l'A.D.N., de la même manière que sur la tumeur ascite d'ERLICH.

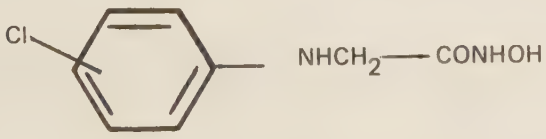
Les effets antifongiques sont fréquemment rencontrés et coexistent souvent avec les effets antibactériens.

Tel est le cas des acides aminocynnamylidènehydroxamiques brevétés (175) pour leurs effets sur les fongis cutanés (*Trichophyton, Microsporon, Candida albicans*) et sur les bactéries *(Staphylococcus aureus, Escherichia Coli, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa).*

La croissance de *Trichophyton, violaceum, gryp-seum et Achorion schoenleini* est totalement inhibée *invitro* (91) par les benzhydroxamates et salicylhydroxamates de sodium. HALWEG croit pouvoir attribuer cette activité au groupement hydroxamique.

Des auteurs polonais (1) ont noté une grande activité des acides chlorophénoxyacéthydroxamiques contre les champignons du genre *Fusarium, Alternaria, Trichophyton, Candida, Cryptococcus et Géotrichum.*

Des propriétés analogues se retrouvent dans d'autres dérivés halogénés (61) tels que les acides chlorophényl aminoacéthydroxamiques intéressant à la fois comme fongicides et comme herbicides en raison de leur faible phytotoxicité.



La saturation du cycle aromatique ne modifie pas les propriétés fongicides puisque l'acide hexahydrobenzhydroxamique est brevété par BAYER (161) pour une telle action.

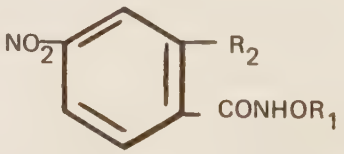
Les composés soufrés et en particulier les dérivés phénylthioacéthydroxamiques possèdent des effets antifongiques (154) vis à vis de *Rhizoctonia Solani et de Fusarium.* Les acides dichlorophényl hydroxamiques sont également fongicides (3).

L'action des acides hydroxamiques sur la croissance et la multiplication des virus a fait l'objet de quelques études très récentes. L'acide salicylhydroxamique (219) inhibe la croissance de certains virus : pseudorabiques et vaccines en culture de fibroplastes d'embryons de poulet. Il s'agirait d'un effet toxique non spécifique puisque la même concentration de produits inhibe la synthèse de l'A.D.N. et de l'A.R.N. dans des cultures cellulaires non infectées.

GALE et SMITH en 1968 (77) étudient l'influence du même produit ainsi que de l'acide oxamylhydroxamique sur la replication du bactériophage de *Escherichia coli*. Ils trouvent que ces produits ont une action à des concentrations de 10^{-5}M qui est plus intense que celle de l'hydroxyurée.

B - EFFET ANTIPARASITAIRE

Divers hydroxamates ont été proposés comme pesticides et ont fait l'objet de brevet. L'acide benzhydroxamique et ses dérivés répondant à la structure suivante :



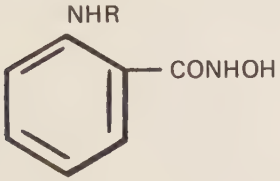
protège la volaille contre la coccidiose lorsqu'ils sont incorporés à la nourriture ou à l'eau de boisson (172)

La firme DUPONT de NEMOURS (179) a breveté comme insecticides et antinématodes une série de carbamylhydroxamates.

C - EFFET ANTI-INFLAMMATOIRE, ANALGESIQUE ET ANTIPYRETIQUE.

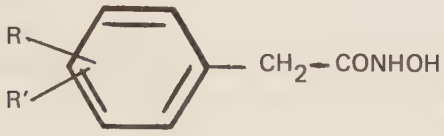
De telles propriétés sont signalées à propos d'acides arylhydroxamiques ou arylakylhydroxamiques.

Les dérivés de structure générale (183) :



apparentés à l'acide anthranilique possèderaient des effets analgésiques, antipyrétiques et antiphlogistiques.

BUU-HOI (29) rapportent la synthèse d'acides alkylarylacéthydroxamiques à propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, antipyrétiques et hypocholestérolémiantes (178).



Les études de cet auteur ont porté spécialement sur l'acide parabutoxyphénylacéthydroxamique dont la distribution dans l'organisme, le métabolisme et l'excrétion ont été envisagés (211).

La séparation et l'identification des métabolites urinaires ont été réalisées chez l'homme (212) à partir de l'acide p-butoxyphénylacéthydroxamique marqué au C^{14} (Droxaryl).

D - EFFET HYPOCHOLESTEROLEMIANT.

Nous venons de mentionner un tel effet (178) qui coexiste avec l'action anti-inflammatoire. Un brevet récent (163) mentionne la préparation de phénoxy-3-propylcarbétoxyhydroxamate en vue d'application comme médicament hypocholestérolémiant.

IV - EFFETS BIOLOGIQUES DIVERS

La toxicité générale n'a été vraiment étudiée de façon approfondie que dans le cas de l'acide p-butoxyphénylacéthydroxamique (131). La DL 50 est de 8 g par kg chez la souris et de 4 g par kg chez le rat par voie buccale, cependant en toxicité chronique, des doses quotidiennes de 200 à 500 mg par kg et par voie buccale diminue le taux de croissance des rats.

Inversement, différents acides hydroxamiques ont été proposés comme contre-poison vis à vis de l'intoxication par les inhibiteurs de cholinestérase en général (4) et plus spécialement contre l'intoxication par les organo phosphorés (68).

Nous avons encore trouvé dans la littérature mention d'interférences des acides hydroxamiques avec des systèmes biologiques.

Le N-benzyl-carbétoxyhydroxamate de benzoyl perturbe le dosage des stéroïdes urinaires (62) quand on l'effectue par la réaction colorée de PORTER et SILBER.

L'acide dl asparthydroxamique possède une activité spécifique d'inhibition d'hémagglutination (232) vis à vis du collagène traité par l'hydroxylamine.

Enfin, il est curieux de noter que GOLDBERG (169) préconise l'introduction des acides 0 (propynyl 2) hydroxamiques comme correcteurs de goût dans les aliments. Ces produits présentent en effet, la saveur de l'ail. Autre effet biologique inattendu : les hydroxamates dérivés des corticostéroïdes sont biologiquement inactifs (120).

V - LES ACIDES HYDROXAMIQUES A USAGE INDUSTRIEL

Les acides hydroxamiques correspondant aux acides phényloléïques ou phénylstéariques peuvent être ajoutés au carburant des moteurs comme détergent pour enlever les dépôts du système d'allumage (173). Une telle application a été brevétée aux Etats-Unis en 1965.

C'est la discordance apparente entre les multiples activités biochimiques et pharmacodynamiques des acides hydroxamiques et leur quasi absence de la thérapeutique qui nous a amené à entreprendre la préparation et l'étude de quelques uns de ces produits.

Le choix que nous avons fait de la molécule d'acide chromone carboxylique nous laisse espérer la découverte d'une série de composés d'intérêt thérapeutique.

DEUXIEME PARTIE

Etude Chimique

1) Matières premières

2) Préparation de l'acide chromone carboxylique-2

3) Préparation du chlorure d'acide chromone carboxylique-2

4) Préparation du chromone carboxylate-2 d'éthyle

5) Préparation du chromone carboxylate-2 de méthyl

6) Préparation du méthoxy-7 chromone carboxylate-2 d'éthyle

7) Préparation du méthoxy-7 chromone carboxylique-2

8) Préparation du chloro-6 chromone carboxylate-2 de méthyl

9) Préparation de l'acide chromone hydroxamique-2

10) Préparation de l'acide chloro-6 chromone hydroxamique-2

11 - Spectres infra-rouges.

I - MATIERES PREMIERES

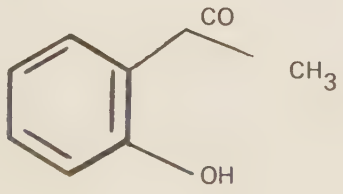
Nous donnerons quelques renseignements sur les matières premières que nous avons utilisées.

a) Le Méthylate de sodium $CH_3 ONa$

Nous l'avons préparé à partir du méthanol et du sodium métallique.

Dans un bécher de 1 litre, on verse environ 300 ml de méthanol, on y ajoute progressivement 23 g + 10 p. cent de sodium sous forme de fil tout en agitant. Le liquide doit demeurer parfaitement limpide. On distille le méthanol sous vide en agitant pour régulariser l'ébullition, le réfrigérant est placé en position descendante. Le méthylate de sodium reste au fond du ballon sous forme d'un solide blanc très hygroscopique.

b) L'o-hydroxyacétophénone



$C_8H_8O_2$ P.M. : 136

Nous avons redistillé sous vide à la colonne de Vigreux l'o-hydroxyacétophénone du commerce. La plus grande partie du produit a distillé à 108 ° sous 17 m m. Son indice de réfraction à 20° mesuré au réfractomètre O. P.L. est de 1,5580.

HEILBRON (96) a donné :

$E_{17\ mm}$: 106° C

n_D^{21} : 1,558

c) L'oxalate neutre d'éthyle

$$\begin{array}{l} COOC_2H_5 \\ | \\ COOC_2H_5 \end{array}$$

Nous avons utilisé le produit du commerce pur.

d) Ether de pétrole

Nous utilisons un solvant commercial distillant entre 40° et 65°, séché sur sodium.

e) Chlorure de thionyle : $SOCl_2$

Nous l'utilisons lors de la chloruration après l'avoir préalablement redistillé.

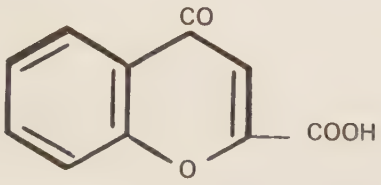
La littérature donne E_{760} : 79° .

Le jour où nous l'avons redistillé il passait à 74°.

II - PREPARATION DE L'ACIDE CHROMONE CARBOXYLIQUE-2

ou acide phényl benzopyrone carboxylique-2.

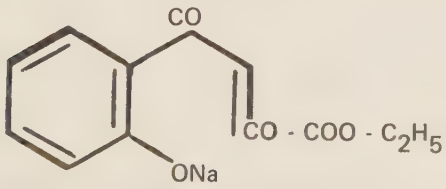
1) FORMULE :



$C_{10}H_6O_4$ P.M. : 190

2) TECHNIQUE :

a) Préparation de l'ester-o-benzoyl pyruvique (forme sodique).



$C_{12}H_{10}O_5Na$ P.M. : 257

Le méthylate de sodium préparé fraîchement est réduit en poudre, puis mis en suspension dans environ 1200 ml d'éther de pétrole anhydre.

On modifie le montage précédent en ajoutant une ampoule à brome et en plaçant le réfrigérant en position ascendante. Tout en agitant, nous ajoutons à l'éther de pétrole et au méthylate un mélange de :

- o-hydroxyacétophénone ..... 61,2 g (0,46 mole)
- oxalate neutre d'éthyle ..... 72 g (0,48 mole)
- éther de pétrole ..... 60 ml.

Nous ajoutons le mélange précédent goutte à goutte de manière que l'addition dure environ une heure. Dès la première goutte, le mélange jaunit. Il est préférable de ne pas chauffer sinon il se forme un produit plus foncé et moins abondant.

Nous laissons en contact au moins trois heures. Nous filtrons sur Büchner, nous lavons le précipité à l'éther de pétrole. Nous obtenons un produit jaune clair que nous laissons sécher à l'air.

Poids obtenu : 135 g.

b) Cyclisation

Dans un réacteur Quick-Fit nous introduisons l'ester o-benzoyl-pyruvique obtenu auquel on ajoute :

- 500 ml d'acide acétique
- 150 ml d'acide chlorhydrique

Nous portons le ballon dans un bain d'huile à 100 °à reflux pendant deux heures. Après filtration à chaud sur verre fritté pour éviter la prise en masse, nous lavons le précipité avec un minimum d'eau distillée. Le filtrat est mis au réfrigérateur. Dans les eaux-mères, il reprécipite de l'acide que nous filtrons sur verre fritté n° 2 au bout de 12 heures environ.

Tout le précipité est lavé deux fois avec 100 ml d'eau. On le sèche à l'étuve à 70°

Point de fusion : 257 - 258 °

Le produit peut être recristallisé dans l'alcool, ou le dioxane mais il est assez pur. Il n'est pas nécessaire de le recristalliser pour les opérations ultérieures.

Poids obtenu : 65 g

Rendement : 64 p. cent.

3) ANALYSE :

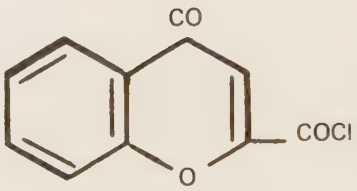
	Calculé %	Trouvé %
C	63,16	63,21
H	3,16	3,28

4) LITTERATURE :

HEYWANG (100) : point de fusion 252°
ZAGOREVSKII (271) : point de fusion 251°-252°
SCHUMTZ (221) : point de fusion 256°-263°
DE VRIES (55) : point de fusion 256°-259°

III - PREPARATION DU CHLORURE D'ACIDE CHROMONE CARBOXYLIQUE-2

1) FORMULE :



$C_{10}H_5O_3Cl$ P.M. : 208,5

2) TECHNIQUE :

19 g (0,1 mole) d'acide sont placés dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant lequel communique avec l'extérieur au moyen d'une colonne remplie de chlorure de calcium. Nous opérons sous une hotte, à l'abri de toute trace d'humidité. Nous y ajoutons 60 ml de dichloro 1-2 éthane anhydre et 35 ml de chlorure de thionyle. Le mélange est chauffé à reflux jusqu'à dissolution de l'acide et obtention d'un liquide orangé, opération qui demande 48 heures environ.

Après filtration, nous chassons le solvant à l'évaporateur rotatif sous vide, au bain d'eau à 50° . Nous lavons au dichloro 1-2 éthane deux ou trois fois (150 ml) puis à l'éther de pétrole anhydre (200 ml). Nous recueillons un résidu de couleur marron clair ; c'est le chlorure d'acide chromone carboxylique.

Poids obtenu : 10 g
Point de fusion : 95° brut
Rendement : 47 p. cent
Point de fusion : 106 - 107° (recristallisé dans le cyclohescane)

3) ANALYSE :

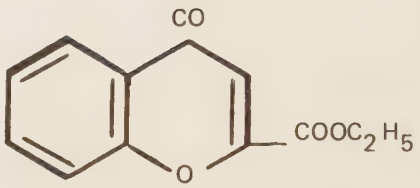
	Calculé %	Trouvé %
C	57,55	56,7
H	2,40	2,45
Cl	17,02	16,8

4) LITTERATURE :

ZAGOREVSKII (271)
DE VRIES (55)

IV - PREPARATION DU CHROMONE CARBOXYLATE-2 D'ETHYLE

FORMULE :



$C_{12}H_{10}O_4$ P.M. : 218

A - Par cyclisation de l'ester o-benzoylpyruvique dans l'éthanol.

L'ester o-benzoylpyruvique peut être cyclisé sans hydrolyse de la fonction ester.

A 2,5 g d'ester o-benzoylpyruvique (dérivé sodique) nous ajoutons un mélange de :

- 30 ml d'éthanol
- 2 ml d'acide chlorhydrique concentré (2,5 moles)

Nous chauffons dix minutes à reflux au bain d'huile à 80° . Il se forme un précipité de chlorure de sodium que nous avons éliminé en filtrant. Le filtrat est évaporé à sec à l'évaporateur rotatif sous vide au bain d'eau à 60°. Nous reprenons le résidu de l'évaporation par l'éther bouillant. Nous filtrons sur verre fritté, nous obtenons un résidu constitué par de l'acide. Nous concentrons le filtrat, nous obtenons un précipité qui est l'ester cyclisé.

Poids obtenu : 0,4 g

Point de fusion : 132°

Nous avons obtenu d'autre part 1,5 g de chlorure de sodium et 1 g d'acide.

Remarque : Nous avons remplacé l'éthanol par le méthanol nous n'avons pas obtenu de meilleurs résultats dans la préparation de l'ester méthylique.

Recristallisation :

Plusieurs essais ont été pratiqués :

a) Dans le mélange acétate d'éthyle - 1 partie
benzène - 2 parties

0,50 g d'ester brut fournit 0,20 g de produit pur.

b) Dans le mélange hexane - 2 parties
tétrachlorure de carbone - 1 partie

0,50 g d'ester brut fournit 0,20 g de produit pur.

B - Par cyclisation de l'ester o-benzoylpyruvique en milieu aqueux.

Nous avons essayé une autre méthode suivant un brevet anglais FISONS (174).

Nous humectons l'ester (1 partie) avec 3 parties d'éthanol puis nous le dissolvons dans environ 1.000 parties d'eau. Nous acidifions avec de l'acide chlorhydrique dilué. Après extraction au chloroforme, nous lavons les extraits une fois à l'eau, nous séchons sur sulfate de sodium. Puis nous évaporons sous vide jusqu'à obtention de 41 parties d'une huile brune. Nous extrayons plusieurs fois à l'éther bouillant. Nous concentrons les extraits après les avoir traités au noir.

Nous aurions dû obtenir 20,2 parties d'un produit solide en l'occurence l'ester cyclisé, en fait nous avons obtenu une huile non cristallisable.

C - Préparation à partir du chlorure d'éthoxalyle.

Nous ajoutons avec précaution à 13 parties de chlorure d'éthoxalyle un mélange de :

- 10 parties d'o-hydroxyacétophénone
- 20 parties de pyridine.

C'est à dire à 18 g de chlorure d'éthoxalyle (0,1 mole), nous ajoutons 13,6 g d'o-hydroxyacétophénone (0,1 mole) et 20 ml de pyridine.

Nous chauffons le mélange à 100° pendant trente minutes. Nous le refroidissons, puis nous le versons sur un mélange de glace et d'acide chlorhydrique concentré. Une huile se forme, nous extrayons cette huile au chloroforme. Nous séchons les extraits sur sulfate de sodium, nous filtrons nous éliminons le solvant à l'évaporateur rotatif.

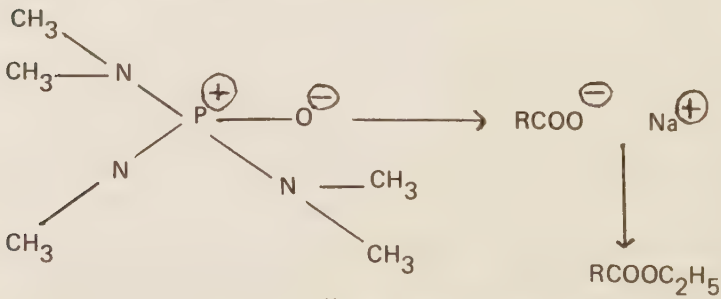
Nous aurions dû obtenir un résidu, en fait, nous n'avons obtenu qu'une huile non cristallisable.

D - Méthode à l'hexaméthylphosphotriamide.

1) PRINCIPE :

Nous avons utilisé la méthode de NORMANT et CUVIGNY décrite à propos du caproate d'éthyle ($C_5H_{11}COOC_2H_5$) (192).

A 0,1 mole d'acide nous ajoutons 0,1 mole d'hydrure de sodium ou d'amidure de sodium, ceci en présence de tétrahydrofurane, puis 0,1 mole d'iodure d'éthyle et 40 ml d'hexaméthylphosphotriamide



La littérature donne 76 % de rendement

2) TECHNIQUE :

A 9,5 g (0,5 mole) d'acide chromone carboxylique-2, dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane, nous ajoutons petit à petit en agitant 2 g d'amidure de sodium (0,5 mole). L'agitation est maintenue quatre heures à température ambiante puis le mélange est porté à la chambre froide.

Le lendemain nous ajoutons à ce mélange 5,5 g (0,5 mole) de bromure d'éthyle puis 70 ml d'hexaméthyl phosphotriamide (HMPT). Nous chauffons à 70° pendant quatre heures. Puis nous jettons le mélange sur la glace et nous acidifions par 5 ml d'acide chlorhydrique.

Nous avons obtenu en fait :

- 0,75 g d'ester
- 6 g d'acide chromone carboxylique-2
- 1,5 g de mélange d'acide et d'ester

Remarque : La préparation a été effectuée avec du bromure d'éthyle alors que la littérature mentionne l'iodure d'éthyle.

E) Méthode à partir du chlorure d'acide et de l'éthylate de sodium .

Nous dissolvons environ 7 g de chlorure d'acide (0,033 mole) dans 100 ml de dichloréthane anhydre.

Dans un appareil Quick-Fit muni d'un agitateur en verre, nous mettons en suspension l'éthylate de sodium préparé à partir d'un gramme de sodium en fil dissous dans 50 ml de dichloréthane. A l'aide d'une ampoule à brome, nous ajoutons goutte à goutte la solution de chlorure d'acide, tout en agitant. Nous maintenons l'agitation une demi-heure. L'ensemble est alors porté au bain d'huile à 70°.

Il précipite du chlorure de sodium (3,5 g) et de l'acide (3 g). Nous chassons le dichloréthane à l'évaporateur rotatif, sous vide au bain d'huile à 50°.

Nous avons obtenu de l'ester mais très impur.

Poids obtenu : 3 g.
Point de fusion : 110°
Rendement : 33 p. cent.

F) Estérification directe de l'acide par l'alcool.

Nous avons dissous 100 g d'acide chromone très sec dans 2 litres d'alcool absolu et nous y ajoutons 8 gouttes d'acide sulfurique en ayant soin d'opérer à l'abri de l'humidité. Le réfrigérant est placé en position descendante et relié avec l'extérieur à l'aide d'une colonne remplie de $CaCl_2$. On chauffe à l'ébullition. Ainsi on distille l'alcool tout le long de la préparation. On met le vide à la fin de l'opération Le résidu est repris par l'éther bouillant, nous filtrons, l'insoluble est de l'acide. Nous placons le filtrat à la température

du laboratoire où il s'évapore à l'air.

Poids obtenu : 38 g d'ester
Rendement : 32 p. cent.

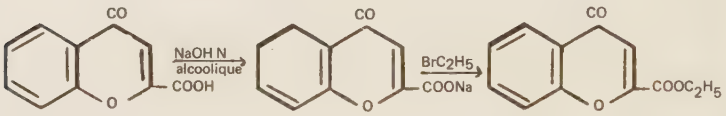
Recristallisation :

Nous avons dissous l'ester dans un mélange eau-alcool (1 : 2) à raison de 3 g pour 20 ml de mélange.

Poids obtenu recristallisé : 26 g
Point de fusion : 132°- 133°
Rendement après recristallisation : 22 p. cent.

Nous avons aussi essayé le mélange eau-alcool (1 : 1). Nous obtenons le même poids d'ester recristallisé.

G) Action du bromure d'éthyle sur le sel sodique.



A 19 g d'acide chromone carboxylique-2 (0,1 mole) nous ajoutons pour le dissoudre 60 ml d'alcool et 100 ml de soude alcoolique N (0,1 mole). Puis nous ajoutons goutte à goutte et en agitant 12 g de bromure d'éthyle (0,1 mole). On ajoute 10 p. cent en plus de bromure d'éthyle car c'est un liquide très volatil dont le point d'ébullition est de 37°. Nous laissons agiter 2 heures.

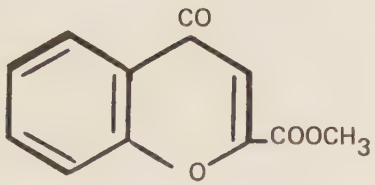
Nous obtenons un précipité de bromure de sodium que l'on sépare par filtration (Poids 21 g).

Le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif, nous obtenons un résidu que nous repassons par l'éther bouillant. Nous laissons précipiter le filtrat.

Poids obtenu : 0,2 g d'ester
5 g d'acide chromone carboxylique-2.

V - PREPARATION DU CHROMONE CARBOXYLATE-2 DE METHYLE

FORMULE :



$C_{11}H_8O_4$ P.M. : 204

A - Préparation à partir du diazométhane

1) Préparation du diazométhane (19)

$$CH_3N(NO)CO\text{-}NH_2 + KOH \longrightarrow CH_2N_2 + KCNO + 2H_2O$$

Nous ajoutons à 30 ml de lessive de potasse à 40 p. cent, 100 ml d'éther. Nous portons ce mélange à refroidir de façon que la température ne dépasse pas 5°C. En maintenant refroidissement et agitation, nous ajoutons en 1 à 2 minutes par petites fractions dix grammes de nitrosométhylurée finement pulvérisée. La couche éthérée jaune est séparée facilement.

Elle contient 2,8 g de diazométhane accompagnés d'une petite quantité d'eau. On peut enlever cette eau par un séchage de trois heures sur potasse caustique pure en pastilles.

On peut préparer de la même façon des solution de diazométhane dans le benzène ou dans d'autres solvants non miscibles à l'eau.

Remarque : La solution éthérée ne contient ni ammoniaque ni alcool méthylique. Elle contient des traces de méthyl amine.

La préparation du diazométhane s'avère une préparation dangereuse. La nitrosométhylurée est un produit hautement cancérigène. D'autre part, il y a risque d'explosion au-dessus de 5°C et il se dégage des vapeurs toxiques pour le foie. Aussi faudra-t-il prendre certaines précautions, nous travaillerons sous une hotte, à température très basse

2) Fabrication de l'ester.

A la solution éthérée de diazométhane, nous ajoutons durant 10 à 20 minutes 15 g d'acide chromone carboxylique-2 très sec. Nous maintenons l'agitation pendant 2 heures, nous filtrons l'excès d'acide que nous lavons à l'éther. Nous pouvons le récupérer. Nous chassons l'éther sous pression réduite. Nous obtenons le produit brut. Nous récupérons 3 g d'acide.

Poids obtenu : 12 g
Rendement : environ 100 p. cent
Point de fusion : 122 - 123°

Recristallisation :

Nous avons recristallisé l'ester dans un mélange à parties égales d'eau et d'alcool.

B - Préparation à partir du trifluorure de Bore dans le méthanol (149)

1) Préparation du solvant :

Un litre de méthanol est introduit dans un bécher de deux litres, refroidi dans de la glace. 125 g de trifluorure de Bore sont ajoutés lentement dans le méthanol. Cette opération doit être faite sous une hotte.

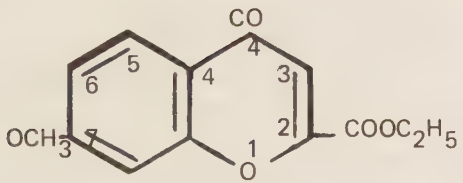
2) Estérification :

300 ml de solvant : BF_3-Méthanol sont mis à réagir avec 20 g d'acide chromone. Le mélange est porté à reflux dans un bain d'huile à 80°, pendant deux heures. Nous évaporons. Nous recueillons le précipité.

Poids obtenu : 15 g d'ester
Point de fusion : 122°- 123°
Rendement : 83 p. cent.

VI - PREPARATION DU METHOXY-7 CHROMONE CARBOXYLATE 2-D'ETHYLE

I - FORMULE :



$C_{13}H_{12}O_5$ P.M. : 248

II - TECHNIQUE :

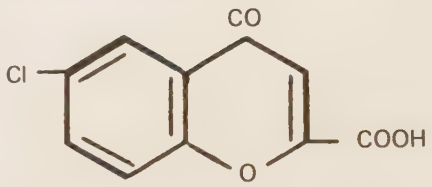
A 16,6 g (0,1 mole) d'hydroxy-2 méthoxy-4 acétophénone (0,1 mole) nous ajoutons 29,2 g (0,5 mole) d'oxalate de diéthyle et de l'éthylate de sodium obtenu en dissolvant 2,3 g (0,1 atome) de sodium en fil dans 50 ml d'alcool absolu.

Nous chauffons 1 heure 30 à reflux. Il se forme un précipité de pyruvate sodé. Nous ajoutons très doucement 14 ml d'acide chlorhydrique concentré (0,14 mole). Nous chauffons à reflux pendant 30 minutes. Après refroidissement nous ajoutons 500 ml d'eau.

Nous avons obtenu 0,8 g de méthoxy-7 chromone carboxylate 2-d'éthyle dont le point de fusion est de 122-123°.

VII - PREPARATION DE L'ACIDE CHLORO-6 CHROMONE CARBOXYLIQUE-2

I - FORMULE :



$C_{10}O_4H_5Cl$ P.M. : 224

II - TECHNIQUE :

1) Préparation de l'acétate de parachlorophénol

Nous introduisons dans une fiole conique, 50 g de parachlorophénol (0,39 mole) et 42,5 g d'anhydride acétique (0,42 mole).

Nous ajoutons à ce mélange deux gouttes d'acide sulfurique concentré tout en agitant. Un vif échauffement se produit, accompagné par la dissolution complète du phénol. Après refroidissement, nous versons le mélange sur 50 ml de glace pilée, nous neutralisons avec de la soude 3 N. Nous extrayons au chloroforme, nous lavons avec 100 ml d'eau. Nous séchons sur sulfate de sodium anhydre. Après évaporation du solvant sous pression réduite, nous distillons le résidu sous vide sous 3 mm de mercure.

Le produit obtenu est un liquide incolore, d'odeur caractéristique.

Rendement : 93 p. cent.

2) Préparation de l'hydroxy-2, chloro-5, acétophénone.

Dans un ballon de 250 ml surmonté d'un réfrigérant muni d'un tube à $CaCl_2$, nous introduisons 46,6 g (0,27 mole) de parachloroacétoxybenzène et 70 g de chlorure d'aluminium anhydre, Le ballon est placé dans un bain

d'huile dont on augmente la température jusqu'à 120°, ceci pendant 1 h 30 environ. Après refroidissement, le ballon est placé dans un mélange eau-glace et l'on traite lentement par 120 ml d'HCl au 1/10.

Il se forme un précipité blanc jaunâtre que l'on sépare.

Rendement : 83 p. cent.

Recristallisation :

Nous avons recristallisé l'hydroxy-2, chloro-5, acétophénone dans un mélange eau-alcool (7:3) en présence de charbon végétal.

3) Préparation de l'ester méthylique de l'acide hydroxy-2, chloro-5, benzoyl pyruvique (forme sodique).

Dans un appareil Quick-Fit, nous introduisons le méthylate de sodium préparé à partir de 13 g de sodium en fil dans 150 ml de méthanol, nous y ajoutons 250 ml d'éther de pétrole. Le ballon est muni d'un réfrigérant ascendant et d'une ampoule à brome. Nous laissons agiter pendant deux heures après avoir ajouté à l'aide de l'ampoule à brome le mélange suivant pendant trente minutes :

- 36 g d'oxalate neutre d'éthyle (0,25 mole)
- 37,5 g d'hydroxy-2 chloro-5 acétophénone (0,22mole)

Le mélange prend très vite une teinte jaune-orange, Nous filtrons sur Büchner, nous lavons le produit obtenu à l'éther de pétrole. Nous écartons l'ester sur du papier filtre afin de le sécher.

4) Préparation de l'acide chloro-6 chromone carboxylique-2.

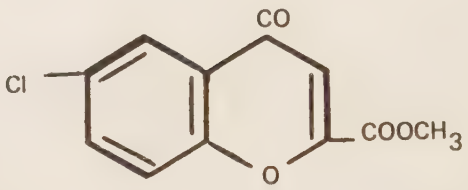
L'ester pulvérisé est introduit dans un ballon rodé de 500 ml. Nous ajoutons alors, 250 ml d'acide acétique et 75 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le ballon muni d'un réfrigérant ascendant est placé sous la hotte, on porte deux heures à reflux. Nous filtrons sur Büchner, les eaux-mères sont portées à la chambre froide ; une deuxième partie précipite . Après filtration, nous lavons à l'eau, l'acide obtenu.

Point de fusion : 270-275°

Rendement : 73 p. cent.

VIII - PREPARATION DU CHLORO-6 CHROMONE CARBOXYLATE-2 DE METHYL

I - FORMULE :



$C_{11}O_4H_7Cl$ P.M. : 238

II - TECHNIQUE :

Nous l'avons préparé comme pour le chromone carboxylate-2 de méthyl c'est-à-dire à partir du diazométhane.

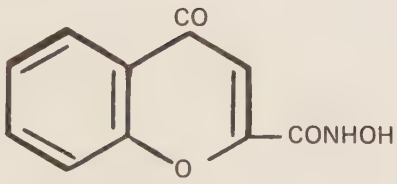
Donc à la solution éthérée de diazométhane, nous ajoutons durant 10 à 20 minutes 15 g d'acide chloro-6 chromone carboxylique-2 très sec. Nous maintenons l'agitation pendant 2 heures, nous filtrons l'excès d'acide que nous lavons à l'éther.

Nous chassons l'éther sous pression réduite. Nous obtenons le produit brut.

Poids obtenu : 12 g
Rendement : environ 100 p. cent
Point de fusion : 136-138°

IX - PREPARATION DE L'ACIDE CHROMONE HYDROXAMIQUE-2

I - FORMULE :



$C_{10}H_7O_4N$ P.M. : 205

II - TECHNIQUE :

Nous dissolvons 7,5 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dans de l'alcool à 96° (q.s.p. 100 ml) et d'autre part, 7,5 g de soude en pastilles dans de l'alcool à 96° (q.s.p. 100 ml). Nous mélangeons des volumes égaux des deux solutions. La température du mélange s'élève légèrement. Nous ne dépassons pas la température de 28° C.

Nous filtrons, le filtrat est mis à réagir 10 minutes à température ambiante avec l'ester (8,2 g soit 0,04 mole) tout en agitant. L'hydroxamate sodique précipite. Nous filtrons. Nous avons obtenu 7,5 g d'hydroxamate sodique. Après l'avoir lavé à l'alcool, nous le dissolvons dans environ 200 ml d'eau à 30°. Après refroidissement, vers 23°C (température du Laboratoire) nous acidifions la solution par addition d'acide acétique glacial jusqu'à pH 4 . Après un repos de 24 heures, l'acide hydroxamique cristallise. Nous filtrons et lavons le précipité obtenu, à l'eau. Nous le séchons à l'étuve à 70°.

Poids obtenu : 7 g
Point de fusion : 268°
Rendement : 86 p. cent.

Recristallisation :

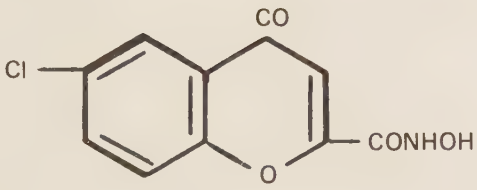
Nous avons recristallisé l'hydroxamate dans un mélange à parties égales de D.M.F. et d'eau.

Poids recristallisé : 3,5 g

Point de fusion : 280°

X - PREPARATION DE L'ACIDE CHLORO-6 CHROMONE HYDROXAMIQUE - 2

I - FORMULE :



$C_{10}H_6O_4NCl$ P.M. : 239,5

II - TECHNIQUE :

La préparation de l'acide chloro-6 chromone hydroxamique-2 a été effectuée par la même méthode que pour l'acide chromone hydroxamique-2.

Nous avons obtenu en partant des quantités correspondantes soit 9,6 g de chloro-6 chromone carboxylate-2 de méthyl:

Poids obtenu : 8,5 g.
Point de fusion : 290°- 300°
Rendement : 88 p. cent.

XI - SPECTRES INFRA-ROUGES

Les spectres étudiés ont été réalisés sur un spectromètre BECKMAN I.R. 8, linéaire en nombres d'onde,en utilisant la technique des pastilles de bromure de potassium.

Pour interpréter les spectres, nous avons utilisé comme sources de documentation les livres de L.J. BELLAMY (16), et KOJI NAKANISHI (121).

Nous avons choisi trois produits pour notre étude ;

- l'acide chromone-carboxylique-2
- l'ester méthylique de l'acide chromone-carboxylique-2
- l'acide chromone carbohydroxamique-2

Nous commenterons successivement les spectres de ces trois produits, en signalant les principales bandes caractéristiques.

A - Acide chromone carboxylique-2 :

Sur le spectre de ce produit, nous pouvons mettre en évidence plusieurs vibrations caractéristiques :

- entre 3.000 et 2.500 cm^{-1} , un groupe de petites bandes irrégulières est dû aux vibrations de valence ν(OH) de la fonction acide carboxylique.

- à 1.730 cm^{-1} un pic aigu traduit la présence d'un groupement carbonylé ; malgré une fréquence un peu élevée, il s'agit, sans aucun doute du carbonyl carboxylique.

- entre 1.650 et 1.610 cm^{-1} se situe une bande complexe dûe aux vibrations (C= O) et (C= C) du noyau pyrone.

- les pics situés à 1590 et 1460 et 750 cm^{-1} peuvent être attribués à la présence du noyau aromatique, le dernier pic étant carcatéristique d'un noyau distribué en ortho.

B - Ester méthylique de l'acide chromone-carboxylique-2

Le spectre de ce composé ne présente aucune bande caractéristique dans la zone située entre 4.000 et 2.000 cm^{-1}

ce qui traduit l'absence de vibrations ν(OH) ou ν (NH). Entre 2.000 et 600 cm^{-1} , on peut reconnaître les pics suivants :

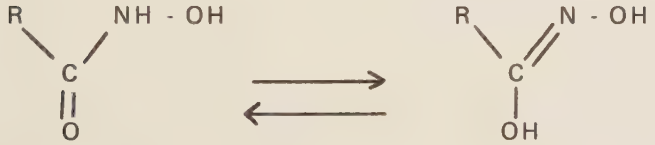
- 1735 cm^{-1} : vibration ν (C = O) de la fonction ester
- 1650 et 1620 cm^{-1} : bandes dues au cycle pyronique
- 1600, 1460 et 765 cm^{-1} : présence d'un noyau aromatique disubstitué en ortho.

C - Acide chromone carbohydroxamique-2 :

L'interprétation du spectre de ce produit nous a posé quelques problèmes.

En effet la littérature que nous avons consultée à ce sujet ne donne que peu de détails.

D'autre part la présence certaine,d'associations moléculaires par pont hydrogène perturbe considérablement la position et le nombre des bandes. Enfin, les acides hydroxamiques sont théoriquement susceptibles d'exister sous 2 formes tautomères.



Structure 1 Structure 2

Malgré ces difficultés, nous croyons pouvoir avancer les commentaires suivants :

Les bandes situées entre 3.500 et 3.400 cm^{-1} sont dues aux vibrations de valence des groupements (OH) et (NH) libres.

L'absorption importante observée entre 3.200 et 2.500 cm^{-1} correspond aux vibrations de ces mêmes groupements, mais associés par des liaisons H.

La présence du noyau pyrone se traduit par les pics situés à 1.640 et 1.620 cm^{-1}.

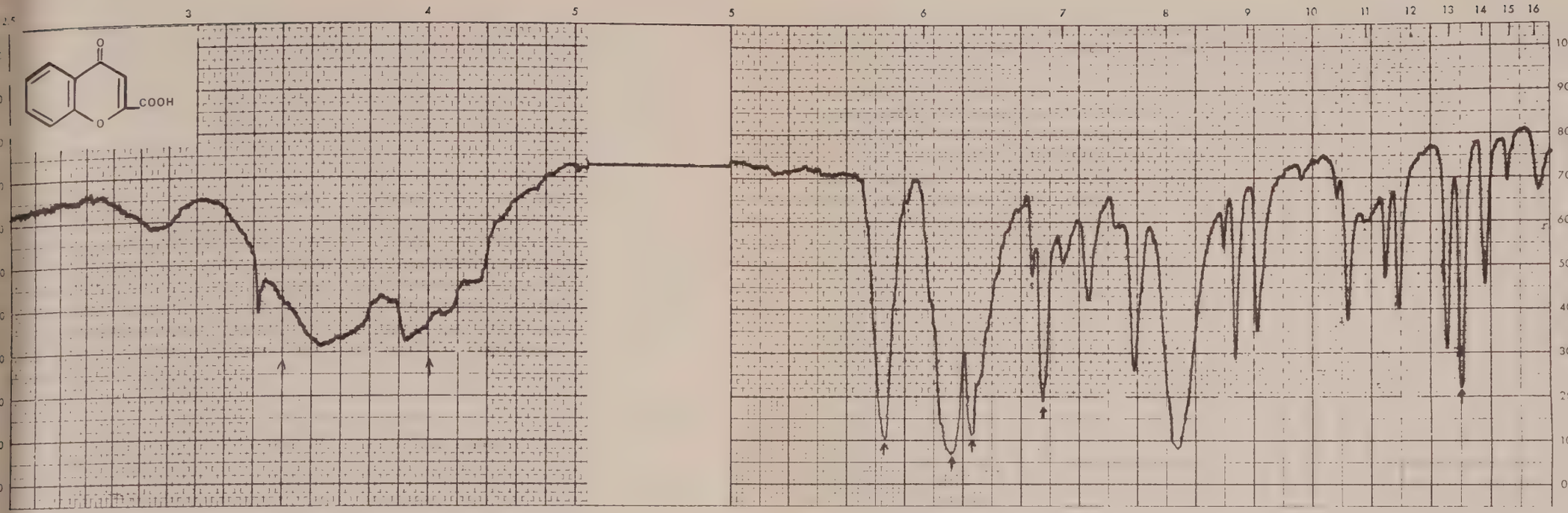
Le noyau aromatique absorbe de son côté à 1 600, 1460 et 755 cm^{-1}.

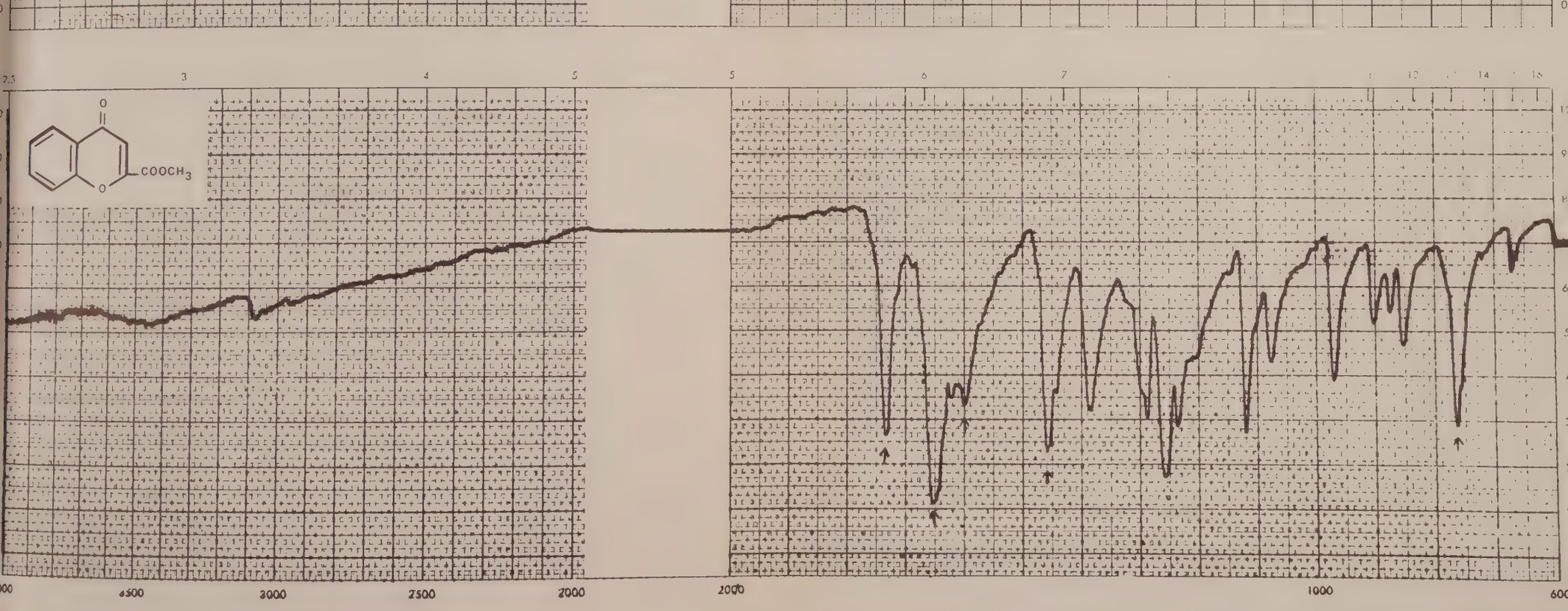
Enfin, le pic situé à 1 680 cm^{-1} peut correspondre à deux sortes de vibration :

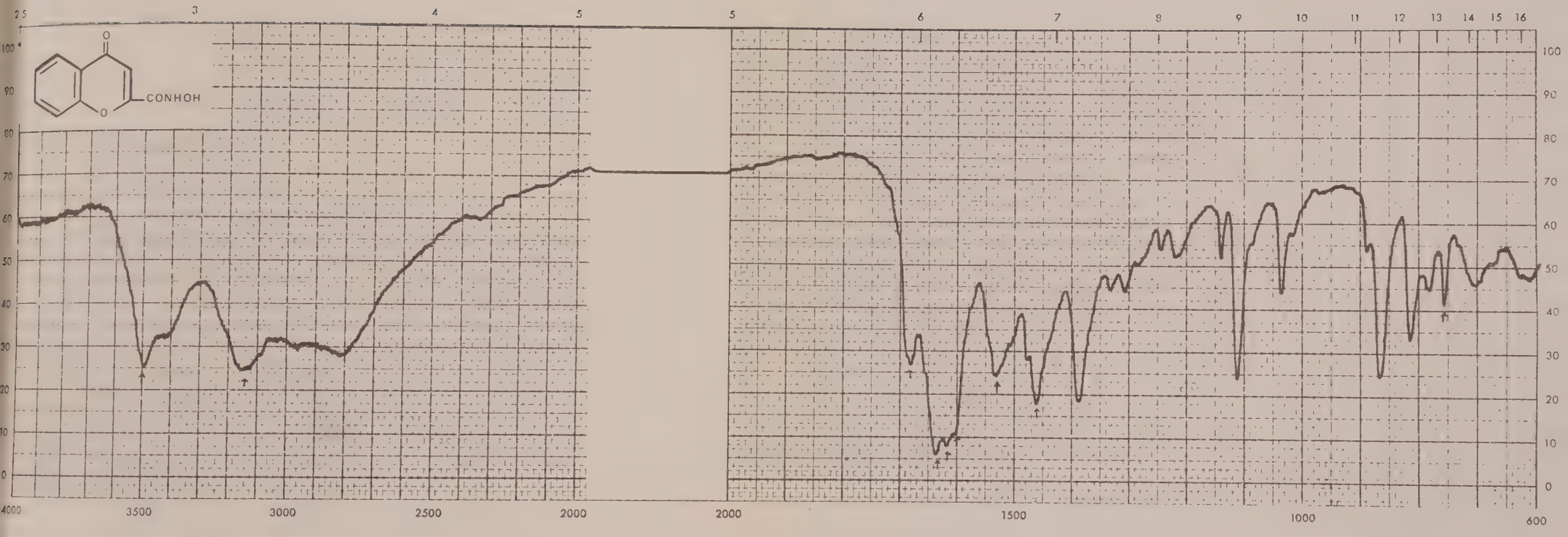
- une vibration de valence ν (C : O) si l'on considère la structure 1 ;
- une vibration de valence ν (C : N) si l'on considère la structure 2.

On peut noter en outre la présence d'un pic particulier situé à 1 530 cm^{-1}.

Ce pic qui n'existe pas sur les spectres précédents ne peut s'expliquer que par la prédominance de la structure 1 ; il correspond en effet vraisemblablement à la combinaison d'une vibration de déformation δ (NH) avec une vibration de valence ν (C - N).


3
4
5
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
O
COOH
O


3
4
5
5
6
7
O
COOCH3
O
3500
3000
2500
2000
2000
1000


CONHOH
O
O
2.5
3
4
5
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
4000
3500
3000
2500
2000
2000
1500
1000
600

TROISIEME PARTIE

Etude pharmacodynamique expérimentale

Nous examinerons successivement :

A - Etude toxicologique

1) Détermination de la dose léthale 50 par voie intra-péritonéale chez la souris.

2) Détermination de la dose minimum mortelle

3) Etude sur le comportement des souris.

B - Etude pharmacodynamique

1) Recherche d'une activité sédative
2) Recherche d'une activité antidépressive
3) Recherche d'une activité anesthésique locale
4) Recherche d'une activité anti-algique
5) Recherche d'une activité anti-inflammatoire
6) Recherche d'une activité parasympatholytique
7) Recherche d'une activité spasmolytique *in vivo*
8) Recherche d'une activité spasmolytique *in vitro*
9) Recherche d'un pouvoir hypocholestérolémiant
10) Recherche d'un effet anti-ulcéreux
11) Recherche d'une activité sur la tension artérielle chez le lapin.
12) Recherche d'un effet sur le coeur isolé de lapin après perfusion
13) Recherche d'une activité vasoconstrictrice locale
14) Recherche d'un effet anti-convulsivant
15) Recherche d'une activité diurétique
16) Recherche d'une activité anti-histaminique
17) Recherche d'une activité anti-tussive
18) Recherche d'une activité de l'hydroxamate chloré.

ETUDE TOXICOLOGIQUE

I ■ DETERMINATION DE LA DOSE LETHALE 50 de L'HYDROXAMATE SODIQUE PAR VOIE INTRA-PERITONEALE CHEZ LA SOURIS

A - GENERALITES :

La méthode employée pour le calcul de la DL50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (117,14,15).

B - ESSAI PRELIMINAIRE :

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone de l'essai définitif qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu, et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

1) Mode opératoire :

Nous avons opéré sur 4 lots de 6 souris albinos ''Swiss ''de 18-20 g provenant du même élevage et soumises à un régime préalable identique (Provende U.A.R. et eau fraîche à volonté). La solution d'hydroxamate sodique est injectée par voie intrapéritonéale sous forme de solution aqueuse.

Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 2.

2) Résultats :

Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (Tableau 1).

TABLEAU 1

DL 50 sur la souris par voie intrapéritonéale

ESSAI PRELIMINAIRE				
Raison 2	Souris 20 g			
Doses en g/kg de poids corporel	0,200	0,400	0,800	1,600
Nombre d'animaux	6	6	6	6
Nombre de morts en 24 heures	0	0	6	6
Nombre de morts entre 24 et 48 h.	0	0	0	0
Nombre total de morts	0/6	0/6	6/6	6/6

C - ESSAI DEFINITIF :

1) Mode opératoire :

Cet essai est pratiqué comme le précédent sur des souris albinos de 18, 20 g (mâles et femelles) provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intrapéritonéale sont en progression géométrique de raison 1,1 et relative à 4 lots de 6 souris. La mortalité a été notée au bout de 24 heures et 48 heures.

2) Résultats :

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBER et BEHRENS, explicitée dans le tableau 2 donne :

TABLEAU 2

DL 50 sur souris par voie intrapéritonéale

ESSAI DEFINITIF

Raison 1,1	Souris 20 g.			
Doses en g/kg de Poids corporel	0,400	0,440	0,484	0,532 = Df
Nombre d'animaux	6	6	6	6
Nombre de morts en 24 heures	0	3	2	6
Nombre de morts entre 24 et 48 h.	0	0	3	6
Nombre total de morts	0/6	3/6	5/6	6/6

$$\text{DL 50 I.P. souris} = Df - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

$$a = \frac{\text{somme des morts de 2 lots consécutifs}}{2} \qquad \frac{0+3}{2} = 1,5 \qquad \frac{5+6}{2} = 5,5$$

$$\frac{5+3}{2} = 4$$

b = différence entre 2 doses consécutives

0,440 - 0,400 = 0,040
0,484 - 0,440 = 0,036
0,532 - 0,484 = 0,048

Df = plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé

Df = 0,532 g/kg

DI 50 I.P. souris = $0{,}532 - \frac{0{,}468}{6}$

DL 50 I.P. souris = 0,454 g par kg

DETERMINATION DE LA DOSE LETHALE 50 DE L'ACIDE CHROMONE HYDROXAMIQUE-2 PAR VOIE INTRAPERITONEALE CHEZ LA SOURIS

A - GENERALITES :

La méthode employée pour le calcul de la DL50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (117,14,15).

B - ESSAI PRELIMINAIRE :

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone de l'essai définitif qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

1) Mode opératoire

Nous avons opéré sur 4 lots de 6 souris albinos ''Swiss ''de 18-20 g provenant du même élevage et soumises à un régime préalable identique (Provende U.A.R. et eau fraîche à volonté).

La solution d'acide chromone hydroxamique-2 est injectée par voie intra-péritonéale, sous forme de solution aqueuse. Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 2.

2) Résultats

Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (tableau 3). De ce tableau, on peut déduire que la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est de 0,400 g/kg et que la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 0,800 g/kg.

C - ESSAI DEFINITIF :

1) Mode opératoire

Cet essai est pratiqué comme les précédents sur des souris albinos " Swiss " de 18-20 g (mâles et femelles) provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 1,1 et relatives à 4 lots de 6 souris La mortalité a été notée au bout de 24 heures et 48 heures.

TABLEAU 3

DL 50 sur souris par voie intrapéritonéale

ESSAI PRELIMINAIRE				
Raison 2	Souris 20 g			
Doses en g/kg de poids corporel	0,200	0,400	0,800	1,600
Nombre d'animaux	6	6	6	6
Nombre de morts en 24 heures	0	0	6	6
Nombre de morts entre 24 et 48 h	0	0	0	0
Nombre total de morts	0/6	0/6	6/6	6/6

2) Résultats

Ils figurent dans le tableau ci-joint (tableau 4).

TABLEAU 4

ESSAI DEFINITIF

Raison 1,1	Souris 20 g			
Doses en g/kg de poids corporel	0,400	0,462	0,508	0,558 = Df
Nombre d'animaux	6	6	6	6
Nombre de morts en 24 heures	0	1	3	6
Nombre de morts entre 24 et 48 h,	0	1	0	6
Nombre total de morts	0/6	2/6	3/6	6

D - CONCLUSION

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBER et BEHRENS explicitée dans ce tableau donne :

$$\text{DL 50 I.P. souris} = Df - \frac{\sum(a \times b)}{n}$$

$$\text{DL 50} = 0{,}558 - \frac{0{,}377}{6}$$

DL 50 I.P. souris = 0,485 par kg

II - DETERMINATION DE LA DOSE MINIMUM MORTELLE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM PAR PERFUSION INTRAVEINEUSE LENTE CHEZ LE RAT.

La détermination de la dose minimum mortelle a été effectuée selon la méthode de KNAFFL-LENZ (122, 250).

A - PRINCIPE :

La dose minimum mortelle est la plus petite dose qui provoque la mort de tous les animaux. Cette dose minimum mortelle est déterminée d'après la mesure du volume de solution aqueuse d'un médicament qui perfusée dans la veine jugulaire du rat, provoque l'arrêt cardiaque.

B - PROTOCOLE EXPERIMENTAL :

1) Choix des animaux

Nous avons choisi des rats de sexe indifférent d'un poids voisin de 200 g.

2) Technique

On injecte au rat en intrapéritonéale une solution à 20 p. cent d'uréthane à la dose de 1,2 g par kg.

L'animal est fixé en décubitus dorsal. On épile la région précordiale. La veine jugulaire est canulée en direction cardiaque, le bout céphalique est ligaturé.

L'appareil est rempli d'une solution d'hydroxamate de sodium. Il ne doit pas y avoir de bulles d'air. Le débit est réglé à 1 ml par mm.

La mort doit être obtenue en 15 minutes environ.

Mode opératoire

L'embout de l'appareil à perfusion est relié à la canule de la jugulaire remplie au préalable de sérum physiologique. On met en marche l'appareil et on effectue la perfusion dans la veine jugulaire au débit de 1 ml par minute.

Lorsque les mouvements du coeur semblent présenter quelques irrégularités, on plante une épingle entre deux côtes pour atteindre le ventricule gauche.

On considère comme arrêt cardiaque toute immobilisation de celui-ci pendant plus de dix secondes. On note le volume écoulé et la durée de la perfusion.

C - RESULTATS :

Après plusieurs essais, nous avons pu déterminer la dose minimum mortelle de l'hydroxamate de sodium qui ,perfusé dans la veine jugulaire du rat,a provoqué l'arrêt cardiaque.

Cette dose est de 500 mg par kg.

III - ETUDE DES EFFETS DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM SUR LE COMPORTEMENT DES ANIMAUX

L'étude du comportement a été effectuée selon la méthode de CAMPBELL et RICHTER (33, 208) Nous nous sommes inspiré des études sur le comportement faites par BASTIAN, HERMANSEN, IRWIN, NODINE et SIEGLER (11, 98, 99 , 113, 114, 191, 244).

A - ANIMAUX :

Des souris albinos blanches des deux sexes d'un poids voisin de 18 à 20 g.

B - ADMINISTRATION DES MEDICAMENTS :

Ils sont administrés par voie intrapéritonéale en solution dans l'eau distillée à une dose égale au 1/5 de la DL 50 en intrapéritonéale.

C - OBSERVATIONS :

Elles sont faites le premier jour au temps 0, 5, 15, 30, 60 minutes et 2, 4, 6, 24, 48 heures, après l'administration.

D - EXPERIMENTATION :

Le jour de l'expérimentation, les animaux sont privés de nourriture et d'eau. Les animaux sont pesés.

On injecte la solution d'hydroxamate de sodium par voie intrapéritonéale à la dose de 1,8 mg pour une souris de 20 g, c'est à dire au 1/5 de la DL 50.

Cinq minutes après l'injection, chaque animal est observé pour les signes suivants :

- ptosis
- piloérection
- phénomène de straub
- diminution ou augmentation de l'activité motrice.

Ensuite chaque animal est observé en dehors de sa boîte en le maintenant d'une main pour les signes suivants :

- salivation
- lacrymation
- mydriase
- myosis

Puis il est placé sur une surface lisse et observé pour les signes suivants :

- pattes arrières écartées
- head-drop
- ataxie
- perte du réflexe de posture (Righting reflex)
- test de Haffners

Enfin, on lui fait subir différents tests de comportement, en particulier :

- test de la planche à trous
- test de la traction
- test de la cheminée
- test de l'évasion ou ''climbing-test ''

E - TESTS DE COMPORTEMENT :

1) Test de la planche à trous

a) Généralités

L'étude du comportement à l'aide de la planche à trous a été effectuée selon la technique de BOISSIER (23, 22).

b) Principe

Ce test consiste à mesurer l'activité d'un animal (souris naïve) placé en situation libre sur une planche percée de 16 trous. La souris passe périodiquement la tête dans les trous. On détermine toutes les minutes et cela pendant 5 minutes, le nombre de trous explorés. Ce test permet d'apprécier la curiosité , l'activité exploratrice et éventuellement l'anxiété. Ces effets permettent de suivre la ''réaction d'exploration ''de l'animal.

c) Expérimentation

Les souris sont déposées avec douceur une à une au centre de la planche et l'on compte le nombre de fois où la souris plonge la tête dans un des trous. Le nombre de trous explorés est relevé au bout de 1, 2, 3, 4 et 5 minutes. Il n'est pas tenu compte des arrêts des animaux devant un trou sans son exploration. Il arrive qu'une souris plonge la tête plusieurs fois de suite dans le même trou, seules sont comptées les explorations séparées par un déplacement net de l'animal. Il n'est pas tenu compte des bords de la planche où d'ailleurs les souris ne restent jamais plus de quelques secondes.

c) Résultats

Après injection d'une dose de produit correspondant au 1/5 de la DL 50, il a été trouvé les résultats suivants par minute :

Dose en mg/kg I.P.	Nbre de souris	0	5 mm	15 mm	30 mm	60 mm	2 h	4 h	6h	24h	48h
Témoins	10	7	7	8	7	9	8	9	7	8	8
Hydroxamate 90 mg/kg	10	7	7	1	0	0	1	1	1	7	8

e) Conclusion

Après injection de 90 mg p. kg d'une solution d'hydroxamate de sodium à des souris, il y a diminution de la ´´Réaction d'exploration ´´des animaux, de 15 minutes à 6 h après l'injection.

2) Test de la traction

a) Généralités

Le test de la traction a été effectué selon la méthode de COURVOISIER et BOISSIER (21, 46, 45).

b) Principe

Ce test consiste à suspendre des souris par les pattes antérieures à un fil métallique tendu horizontalement

Le test est dit positif lorsque l'animal atteint la marque tracée sur le tube en moins de 30 secondes.

d) Résultats

Après injection d'une dose de produit correspondant au 1/5 de la DL 50, les souris atteignent la marque tracée sur le tube en moins de 30 secondes.

Le test est donc positif.

4) Test de l'évasion ou ''Climbing test ''

a) Généralités

Le test de l'évasion ou ''Climbing test ''a été effectué selon la méthode de SANDBERG (216) et KNEIP (123).

b) Principe

Ce test consiste à déposer des séries de 4 souris naïves dans une enceinte dont elles peuvent sortir par un plan incliné grillagé et à noter le nombre d'animaux évadés au bout d'un temps donné.

c) Résultats

Après avoir marqué les souris, on les introduit dans l'enceinte et on les laisse aller et venir. On note le temps mis par chaque souris pour sortir une première fois de l'enceinte et ensuite le nombre de sorties chaque minute pendant 5 minutes.

Après injection d'une dose de produit correspondant au 1/5 de la DL 50, on constate que les souris restent dans l'enceinte sans sortir. Le test redevient positif au bout de 24 heures.

F - RESULTATS :

Les souris observées au temps 0, 5, 15, 30, 60 minutes, 2, 4, 6, 24, 48 heures après administration d'une solution d'hydroxamate de sodium ne présentent aucun ptosis, ni phénomène de straub ni de piloérection.

Tout animal qui ne parvient pas à effectuer un rétablissement qui amène au moins une des pattes postérieures à toucher le fil est considéré comme soumis à une action sédative.

c) Technique

Un fil de fer de 2 mm de diamètre et de 25 cm de longueur est tendu à 30cm de hauteur. Les souris étant saisies par la peau du dos et la queue on présente le fil à leurs pattes antérieures. L'animal est laché aussitôt que les pattes ont saisi le fil. L'animal normal effectue son rétablissement immédiatement.

d) Résultats

Après injection d'une dose de produit correspondant au 1/5 de la DL 50 (90 mg par kg), on a constaté que le test de la traction reste positif chez tous les animaux pendant toute la durée d'action du produit. Si l'on augmente la dose d'hydroxamate sodique (270 mg par kg) les souris ne peuvent se rétablir.

3) Test de la cheminée

a) Généralités

L'étude du comportement à l'aide du test de la cheminée a été effectuée selon la technique de BOISSIER (24).

b) Principe

Cette technique permet d'apprécier plus particulièrement les effets des médicaments sur les fonctions d'équilibration et le tonus musculaire. Ce test consiste à introduire une souris dans un tube de verre de 30 cm de long et de diamètre choisi en fonction du poids de l'animal. Chaque tube porte une marque située à 20 cm de la base.

c) Technique

Le tube étant disposé horizontalement, on introduit par l'extrêmité du tube, une souris la tête en avant. Lorsque l'animal est parvenu à l'autre extrêmité du tube (poussé éventuellement par une grosse tige de verre), on redresse le tube en position verticale. Immédiatement, la souris tente de remonter à reculons dans le tube.

Il y a par contre, une diminution de l'activité motrice au bout de 5 minutes après l'injection intrapéritonéale, cette diminution existe encore 24 heures après. On n'observe aucune salivation, lacrymation, mydriase, ni myosis.

On constate au bout de 15 minutes que les pattes arrières sont écartées, la tête tombe (head-drop) et ceci jusqu'à 6 h après l'injection.

Les souris sont passives, en hypotonie mais la direction de la marche reste contrôlée. Elles gardent le réflexe de posture: la souris placée sur le dos, met moins de 30 secondes pour reprendre sa position normale.

Si on applique un petit clamp artériel à un cm. de la base de la queue, la souris essaye de mordre dans les 30 secondes qui suivent l'application (Test de Haffners).Le produit ne provoque donc aucune analgésie.

Le rythme et l'amplitude respiratoire restent normaux pendant toute la durée d'action du produit. Les selles sont normales. Les animaux ne présentent aucune réaction d'effroi lorsque l'on donne un coup brusque à l'extérieur de la cage.

Seuls les tests de comportement ´´Planche à trous ´´et ´´Climbing test ´´sont négatifs. L'activité exploratrice de la souris est nettement diminuée.

A forte dose, nous avons constaté un effet sédatif. Les souris restent immobiles, en ataxie.

Si nous injectons la solution d'hydroxamate de sodium à la dose de la DL100 (900 mg par kg) à des souris naïves, elles meurent en convulsions, les pattes avant sont rabattues sur le ventre, les pattes arrières sont en extension. Les souris sont en état d'hyperexcitabilité, le moindre bruit ou toucher déclenche une crise convulsivante. Elles présentent un mouvement de pédalage des membres postérieurs. La mort survient rapidement.

Nous avons consigné tous nos résultats dans le tableau numéro 5, ci-joint.

DATE : 10/1/69
PRODUIT : Hydroxamate
VEHICULE : eau distillée
DOSE : 90 mg;/kg.

ANIMAL : SOURIS

SOUCHE : SWISS

Sexe : F et M
Voie : intrapéritonéale
Heure injection : 8 h.

	0	5 mn	15 mn	30 mn	60 mn	2 h	4 h	6 h	24 h	48 h
S. N. C.										
Activité motrice	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0
Passivité	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0
Toilette	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cris	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Agitation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Agressivité	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Crainte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Réponse au toucher	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Analgésie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anesthésie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tremblements	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Etirements	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paralysie : Tête	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pte Avt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pte Post;	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Position du corps : Membres	0	0	-	-	-	-	-	-	0	0
Démarche										
Righting Reflex	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tonus corps	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
abdomen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Réflexe oculaire	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pavillon	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
posture	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
agrippement	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	0	5 mn	15 mn	30 mn	60 mn	2 h	4 h	6 h	24 h	48 h
Réaction d'effroi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Test cheminée	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
de traction	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Appareil respiratoire										
Rythme	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amplitude	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. N. A.										
Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloérection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erection queue	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Coups de queue	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Yeux										
Endophtalmine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Exophtalmine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chromodacryorrhée	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nyctagmie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diamètre pupille	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C. Généraux										
Mictions	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diarrhée	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Couleur Peau	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mort DL 100
(900 mg/kg)
rapide

Code

0 : Activité normale
- : Activité diminuée
= : Activité très diminuée

G - CONCLUSION :

Nous pouvons donc conclure que l'administration d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 90 mg par kg amène peu de modification du comportement des souris. Il n'y a pas de troubles du système nerveux central et aucun signe cholinergique.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

I - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE SEDATIVE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

I - TEST DE LA POTENTIALISATION DU SOMMEIL

Le test de la potentialisation du sommeil a été effectué selon la méthode de WINTER (262).

A - Principe :

La potentialisation de la narcose est un des tests de sédation qui permet de mesurer l'influence des médicaments sur la durée du sommeil induite par un hypnotique. Cette méthode est utilisée pour l'étude des médicaments psycholeptiques, c'est-à-dire les hypnotiques, les neuroleptiques ou tranquillisants majeurs, les tranquillisants mineurs.

B - Protocole expérimental

1) Choix des animaux ;

Nous avons utilisé des lots de 10 souris blanches d'un poids voisin de 20 g.

2) Conditions expérimentales :

Le lot I ou lot témoin reçoit par voie intra-péritonéale vingt minutes avant l'injection de Mébubarbital ou Nembutal, 20 unités d'insuline par 20 g de poids corporel, d'eau distillée.

Le lot II reçoit par voie intra-péritonéale vingt minutes avant l'injection de Mébubarbital ou Nembutal 20, unités d'insuline par 20 g de poids corporel, d'une solution de Largactil à 0,08 mg par ml.

Le lot III reçoit par voie intra-péritonéale vingt minutes avant l'injection de Nembutal, 20 unités d'insuline par 20 grammes de poids corporel, d'une solution d'hydroxamate à 45 mg par kg.

Tous les animaux reçoivent l'hypnotique : Mébubarbital ou Nembutal par voie intra-péritonéale à raison de 35 mg par kg sous forme d'une solution de Mébubarbital à 2 mg par ml.

C - Résultats :

Le critère du sommeil est la perte du ''Righting reflex '' (Réflexe de redressement).

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant (tableau 6).

TABLEAU 6

	Produit	Doses	Voies d' administration	Nombre d'animaux	Moyenne du temps de sommeil en mn.
Lot I	Nembutal	35 mg/kg	I.P.	10	15
Lot II	Largactil Nembutal	2 mg/kg 35 mg/kg	I.P.	10	30
Lot III	Hydroxamate Nembutal	45 mg/kg 35 mg/kg	I.P.	10	15

D - Conclusion :

L'injection intra-péritonéale d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par kg ne provoque aucun accroissement du sommeil, induit par un hypnotique.

II - TEST DE L'ACTIVOGRAPHIE

L'étude de l'effet sédatif a été effectué selon la méthode de BOISSIER (20).

A - Principe :

Le signe le plus banal de la sédation chez l'animal est la réduction de son activité motrice spontanée.

Pour étudier l'effet d'une drogue sur la motilité spontanée de la souris il a été fait appel à la méthode des cages tremblantes.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi par lot, 6 souris albinos du même sexe.

2) Conditions expérimentales :

Le lot I ou lot témoin reçoit par voie intra-péritonéale, 0,5 ml d'eau distillée, par 20 g de poids corporel.

Le lot II reçoit par voie intra-péritonéale 0,5 ml, d'une solution d'hydroxamate à 45 mg/kg, par 20 g de poids corporel.

Le lot III reçoit par voie intra-péritonéale 0,5 ml, d'une solution de largactil à 1 mg par kg, par 20 g de poids corporel.

C - Résultats :

Après avoir placé les animaux dans la cage de l'activographe (2 à la fois), on effectue un enregistrement pendant 15 minutes.

L'administration intra-péritonéale d'une solution d'hydroxamate à la dose de 45 mg/kg ne produit aucun effet sédatif.

Par contre, à des doses beaucoup plus fortes, de l'ordre de 300 mg par kg, nous obtenons un effet sédatif marqué.

II - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-DEPRESSIVE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

L'activité anti-dépressive a été recherchée selon la méthode de SIMON (225).

A - Principe :

Ce test est basé sur l'antagonisme exercé par les anti-dépresseurs vis-à-vis d'une action pharmacologique de la réserpine : la ptose des paupières.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons pris 3 lots de 4 souris d'un poids voisin de 20 g.

2) Conditions expérimentales :

Tous les lots reçoivent en intra-péritonéale 2 mg par kg de Réserpine ou Serpasil en solution dans l'eau bi-distillée.

Le lot I reçoit la réserpine au temps 0.

Le lot II reçoit la réserpine au temps 0, puis le médicament de référence, en l'occurence le Tofranil à la dose de 150 mg par kg per os :

- à la moitié des animaux au temps 0
- à l'autre moitié au temps 0 + 30 minutes.

Le lot III reçoit la réserpine au temps 0 puis l'hydroxamate de sodium au temps 0 et au temps 0 +30 minutes. L'hydroxamate de sodium est donné per os à différentes doses (le 1/5 et le 1/10 de la DL 50 déterminés en intra-péritonéale) : 90 mg par kg et 45 mg par kg.

Les souris de chaque lot sont observées pendant les 90 minutes qui suivent l'inhibition, toutes les 15 minutes et on note le ptosis pour les deux yeux. Le lot témoin est

observé après l'injection de réserpine pendant au moins 2 heures.

C - Résultats :

Après administration per os de l'hydroxamate de sodium à des doses de 90 mg par kg et 45 mg par kg nous avons noté un ptosis pour les deux yeux. Les yeux de toutes les souris sont, en général, fermés au trois-quart.

L'hydroxamate de sodium n'a donc aucune activité anti-dépressive.

III - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANESTHESIQUE LOCALE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

I - TEST DE BULBRING et WAJDA

L'activité anesthésique locale a été recherchée selon la méthode de MOUKTAR (155), modifiée par BULBRING et WAJDA (27).

A - Principe :

Une seule stimulation de la peau du dos du cobaye, produite par un vaccinostyle, fait apparaître un frisson peaucier localisé. Une aire cutanée anesthésiée ne réagit plus à cette excitation unique mais on constate que le réflexe peaucier peut se produire à la suite de la répétition d'un nombre déterminé de stimulations. On considère que la non apparition d'un réflexe peaucier à la suite de 6 excitations est le signe d'une anesthésie complète.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi le cobaye adulte mâle épilé dans la région dorsale la veille de l'expérience.

2) Conditions expérimentales ;

On vérifie que la zone qui va recevoir l'anesthésique répond par un réflexe cutané à un stimulus unique.

L'injection est faite dans le derme, à la température du Laboratoire, à la quantité maximum de 0,2 ml de solution d'anesthésique. On obtient un bouton dermique La recherche de l'anesthésie débute 5 minutes après par des stimulations répétées toutes les trois secondes, dont on compte le nombre. Le nombre de stimulations ne doit pas dépasser 6.

On injecte à côté de l'anesthésique 0,2 ml de soluté chloruré sodique à 9 p. mille afin de pouvoir comparer.

C - Résultat :

Après injection d'une solution d'hydroxamate de sodium, à la dose de 45 mg par kg, on n'obtient aucune anesthésie locale.

II – TEST DE REGNIER :

L'étude de l'activité anesthésique locale a été effectuée selon la méthode de REGNIER (205, 206) et LECHAT (134).

A - Principe :

Une seule excitation de la cornée d'un oeil normal, produite par un crin fin, fait apparaître une réaction de cet oeil sous la forme du réflexe oculo-palpébral. Un oeil anesthésié ne réagit plus à cette excitation unique. Le nombre d'excitations nécessaires pour provoquer le réflexe est proportionnel à la puissance d'action de l'anesthésique.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons utilisé des lapins fauves de Bourgogne. La veille de l'expérience, nous avons coupé les cils et tous les poils situés aux alentours de l'oeil, au ciseau courbe pour éviter le réflexe de Wernicke. Pendant les 12 heures précédant l'expérience, les animaux sont laissés sans nourriture. Pour le test, nous plaçons le lapin dans une boîte en bois, la tête seule dépassant. L'éclairage de la pièce doit être constant (lumière du jour) et la température ambiante est notée (20°). Il faut éviter au maximum les bruits pendant le test.

Les stimulations sont effectuées à l'aide de l'esthésiomètre de COCHET et BONNET.

2) Conditions expérimentales :

Nous avons pratiqué les essais comme suit :

- au temps - 2 minutes, on vérifie qu'un seul attouchement du fil de nylon sur la cornée détermine l'occlusion immédiate des paupières.

- au temps 0 minute, la solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par ml est instillée dans le cul-de-sac conjonctival de façon à ce que ce dernier soit rempli. La solution est laissée exactement 2 minutes au contact de la cornée. A la fin des 2 minutes, la paupière est relâchée.

- au temps + 3 minutes, on effectue une première série d'excitation sur la cornée à l'aide de l'esthésiomètre. Elle consiste à toucher la cornée toujours au même endroit, à raison de 4 excitations par seconde, le fil de nylon restant parfaitement perpendiculaire au plan cornéen.

- au temps +6 minutes et +10 minutes, on renouvelle le test. On procède de même toutes les 5 minutes, jusqu'à ce qu'une seule excitation déclenche le réflexe cornéen.

Il faut à chaque série n'effectuer que 200 excitations consécutives même si le réflexe n'est pas obtenu afin de laisser reposer l'oeil entre chaque série.

C - Résultats :

Après instillation d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par kg, il ne se produit aucune anesthésie de l'oeil.

Des doses plus fortes (200 ml par kg et 450 ml par kg) ne provoquent pas non plus d'anesthésie.

IV - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-ALGIQUE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

I - TEST D'AMOUR ET SMITH

L'étude de l'activité anti-algique a été effectuée selon la méthode d'AMOUR (2).

A - Principe :

Un rayon calorifique d'intensité constante est dirigé sur la queue de la souris jusqu'à ce que la sensation de brûlure se manifeste par une tentative de retrait de la queue. La durée d'application du rayon calorifique, sans réaction sensible, se trouve accrue en présence d'analgésique.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Des souris adultes d'un poids voisin de 20 g. Les souris ne présentant pas une sensibilité convenable doivent être éliminées.

On utilise l'appareil des Etablissements BRAUN.

2) Conditions expérimentales :

On détermine le temps moyen au bout duquel la souris non traitée réagit à la douleur. On répéte deux fois l'essai, l'écart entre deux mesures ne doit pas dépasser deux secondes pour un même essai. On élimine les animaux peu réactifs.

On administre la drogue à essayer par la voie intra-péritonéale à la dose de 45 mg par kg. On détermine le temps moyen de réaction à la douleur après 30, 60, 90, 120, 150, 180 et 240 minutes.

Si le temps initial est dépassé d'au moins deux secondes, on en déduit que l'animal est analgésié.

Remarque : L'exposition de la souris à la chaleur n'est pas prolongée au delà de 18 secondes, pour ne pas provoquer de lésions irréversibles de la queue.

C - Résultats :

Ils sont consignés dans le tableau 7, ci-joint.

Temps en minutes	30	60	90	120	150	180	240
Témoins (6 animaux) seuil en secondes	10	10	11	10	10	11	10
Traités (6 animaux) seuil en secondes	10	10	9	10	11	11	10

D - Conclusion :

L'injection intra-péritonéale de 5 mg par kg d'une solution d'hydroxamate de sodium à des souris ne produit aucune activité anti-algique.

II - TEST DE KOSTER A L'ACIDE ACETIQUE :

L'étude de l'activité anti-algique a été effectuée selon la méthode de KOSTER (128), HENDERSHOT (97) et WITKIN (264).

A - Principe :

L'injection intra-péritonéale d'acide acétique déclenche chez la souris des crises dont la fréquence est diminuée par l'administration préalable d'analgésique.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi des souris blanches de 18 à 22 g mises à jeun 3 heures avant l'administration du produit à tester .

2) Conditions expérimentales :

Les souris reçoivent en intra-péritonéale 250 à 300 mg par kg d'acide acétique sous forme de solution à 3 p. cent d'acide acétique.

A la suite de l'injection, le comportement de l'animal est caractéristique (phénomène de WHRITTING). On observe des contractions abdominales, des torsions du tronc et des extensions des pattes arrières.

Le lot I ou lot témoin reçoit du sérum physiologique dilué au 1/2.

Le lot II : les souris de ce lot reçoivent 30 minutes avant l'injection d'acide acétique, 200 mg par kg d'une solution d'hydroxamate de sodium.

Le lot III : Les souris de ce lot reçoivent 30 minutes avant l'injection d'acide acétique, 100 mg par kg d'une solution d'hydroxamate de sodium.

Immédiatement après l'injection d'acide acétique, on compte la somme des réactions douloureuses pendant 20 minutes.

C - Résultats :

On calcule le degré d'analgésie selon la formule :

$$\text{Pourcentage d'analgésie} = \frac{\text{n crises des témoins} - \text{n' crises traités}}{\text{n crises des témoins}} \times 100$$

Les résultats sont consignés dans le tableau 8 ci-joint.

TABLEAU 8 :

Produits	1er essai	2ème essai	Moyenne	
Hydroxamate 200 mg/kg	290	300	1er essai 3%	2e essai 0%
Hydroxamate 100 mg/kg	275	280	1er essai 2%	2e essai 6%
Témoins	280	300		

D - Conclusion :

L'injection intra-péritonéale d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 100 mg par kg et 200 mg par kg ne produit aucune activité anti-algique.

III - TEST DE WOOLFE ET MAC-DONALD

L'étude de l'activité anti-algique a été effectuée selon la méthode de WOOLFE, MAC DONALD (265) et JACOB (114).

A - Principe :

On place la souris dans un récipient porté à la température de + 58 ° et on note le temps au bout duquel l'animal réagit à la sensation de brûlure par un lèchement des pattes.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

On choisit des souris albinos " Swiss "adultes d'un poids voisin de 20 g. Les souris qui ne présentent pas une sensibilité convenable doivent être éliminées.

2) Conditions expérimentales :

On élimine toutes les souris qui ne réagissent pas en moins de 14 secondes.

On détermine le temps de réaction : 30 minutes, 15 minutes avant l'administration puis toutes les 30 minutes.

Les animaux reçoivent en intra-péritonéale la solution d'hydroxamate de sodium à raison de 45 mg par kg et 160 mg par kg.

L'animal sera retiré de la cuve à expérience s'il n'a pas réagi en 20 secondes et est considéré en état d'analgésie totale.

C - Résultats :

Ils sont consignés dans le tableau 9.

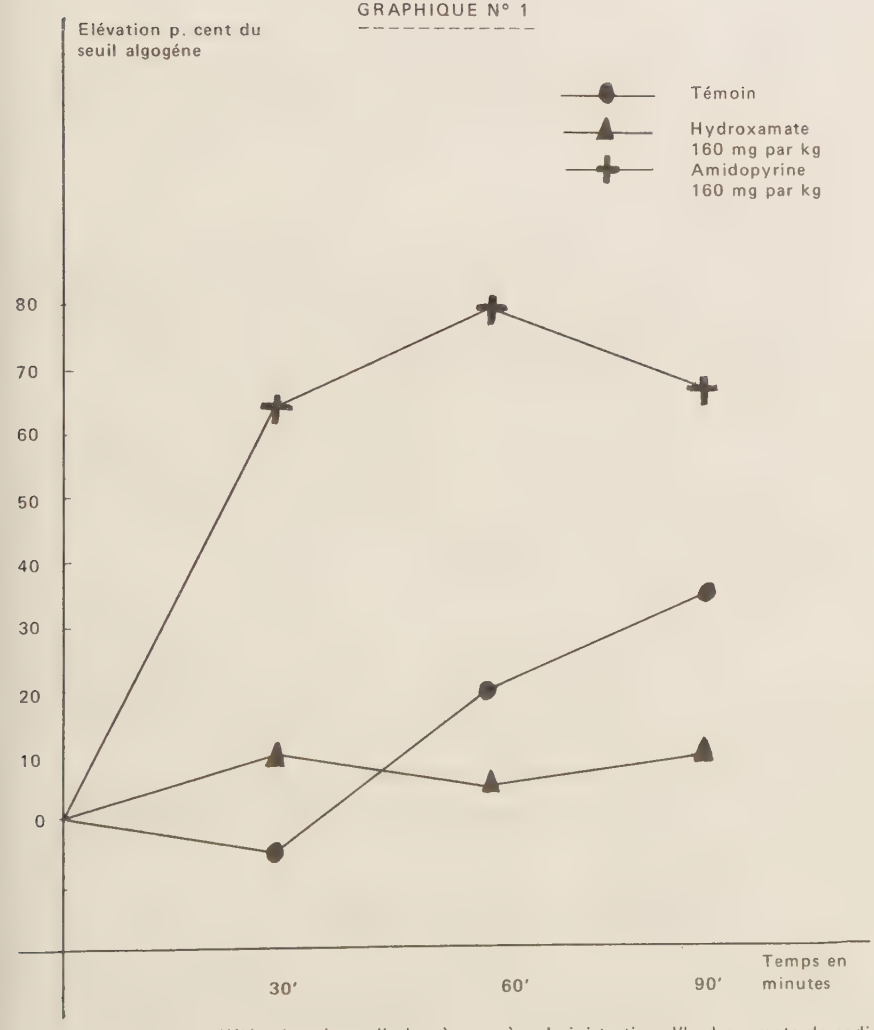
L'administration intra-péritonéale d'une solution d'hydroxamate de sodium aux doses de 45 mg par kg et 160 mg par kg ne produit aucune activité anti-algique.

TABLEAU 9 :

Temps	- 30'	- 15'	30'	1 h	1h30	2h	2h30	3h	3h30	4h
Témoins	8 "	8"	7"	8"	8"	7"	7"	7"	8"	7"
Traités 45 mg/kg	8"	7"	8"	8"	7"	6"	7"	7"	8"	8"
Traités 160 mg/kg	8"	7"	6"	6"	7"	6"	7"	8"	8"	8"

Nous avons tracé la courbe représentant le pourcentage d'élévation du seuil algogène en fonction du temps en heures.

GRAPHIQUE N° 1



Pourcentage d'élévation du seuil algogène après administration d'hydroxamate de sodium.

V - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

La recherche de l'activité anti-inflammatoire a été effectuée selon la technique de HILLEBRECHT (101).

A - Principe :

L'inflammation expérimentale de la patte postérieure du rat blanc est réalisée par l'injection d'une suspension de kaolin sous l'aponévrose plantaire. L'importance de l'oedème est appréciée par mesure de la variation du volume de la patte injectée (mesure pléthysmométrique).

La substance à tester est administrée préventivement et son influence sur le développement de l'oedème est appréciée par comparaison avec des animaux témoins.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons sélectionné des rats Sprague Dawley de 90 à 150 g et soumis à un régime préalable identique.

2) Conditions expérimentales générales :

Nous avons réparti les animaux en 3 lots de trois rats :

- un lot témoin
- un lot traité à la phénylbutazone
- un lot traité à l'hydroxamate de sodium.

Le lot témoin reçoit uniquement l'injection inflammatoire de kaolin à 10 p. cent.

Le lot traité à la phénylbutazone reçoit cette dernière par voie orale à raison de 90 mg par kg.

L'hydroxamate est administré par voie orale à l'aide d'une canule physiologique, en solution dans de la gomme adragante à raison de 90 mg par kg.

Tous les animaux reçoivent une piqûre inflammatoire : 4 à 6 unités de suspension de kaolin à 10 p. cent dans l'aponévrose plantaire des deux pattes arrières.

C - Calculs :

Le pourcentage d'augmentation des volumes par rapport aux volumes initiaux a été calculé ainsi que la moyenne de ces augmentations

$$\frac{V \text{ patte enflée} - V \text{ patte normale}}{V \text{ patte normale}} \times 100$$

D - Résultats :

Ils sont consignés dans les tableaux 10 et 11 et la courbe (graphique n° 2)

TABLEAU 10 :

Hydroxamate : oedème au kaolin		
Temps	Moyenne des % témoins	Moyenne des % traités
1 h	27,5	35
3 h	55	55
6 h	70	72,5
24 h	55	70
30 h	45	42,5

TABLEAU 11 :

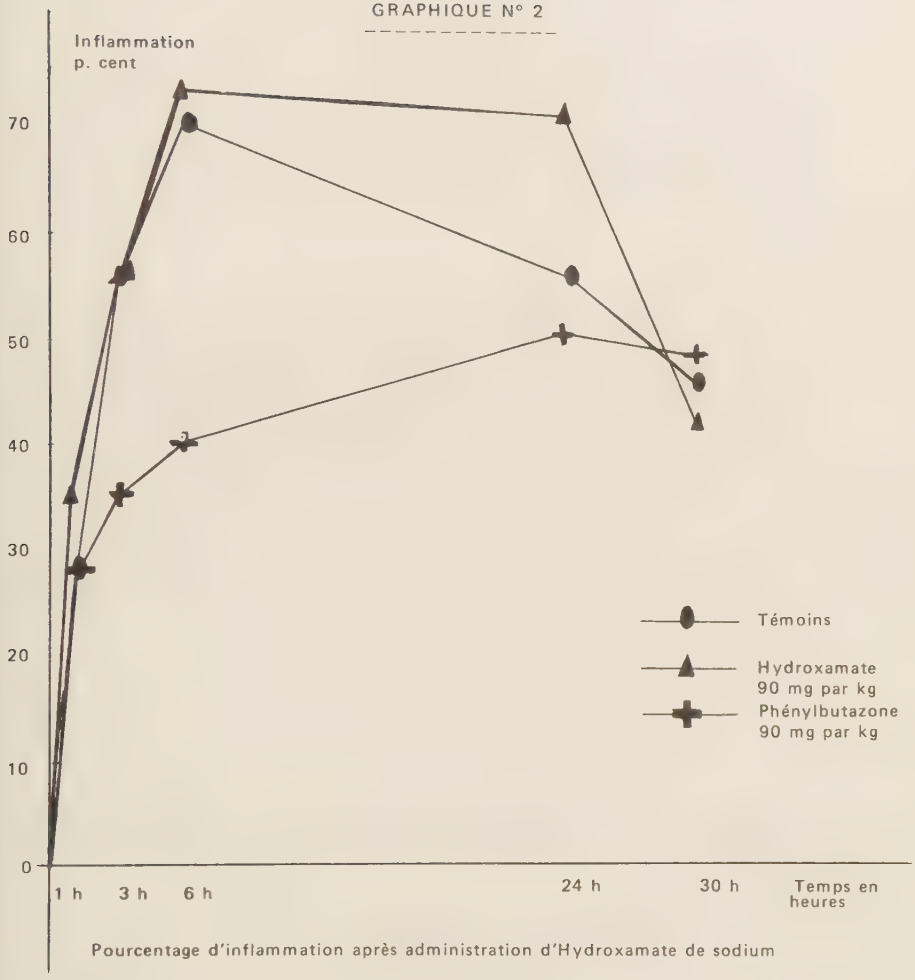
Phénylbutazone : oedème au kaolin

Temps	Moyenne des % témoins	Moyenne des % traités
1 h	27,5	27,5
3 h	55	35
6 h	70	40
24 h	55	50
30 h	45	47,5

E - Conclusion :

L'administration per os d'hydroxamate de sodium à la dose de 90 mg par kg ne provoque aucune diminution de l'inflammation, il y aurait même une légère augmentation de l'inflammation, celle-ci continuant 24 heures après la première administration du kaolin.

GRAPHIQUE N° 2



Pourcentage d'inflammation après administration d'Hydroxamate de sodium

VI - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE PARASYMPATHOLYTIQUE

Test de la Chromodacryorrhée

L'étude de l'activité parasympatholitique a été recherchée selon la méthode de WIMBURG (261) et BURGEN (28).

A - Principe :

Après injection d'acétyl β méthylcholine, un rat, animal de choix présente une lacrymation rouge brûnatre (en moins d'une minute). En approchant une bande de papier filtre du sac conjonctival de l'animal , on recueille une goutte de sécrétion très pigmentée, facile à déceler. Lorsque l'effet est intense, le phénomène apparaît également vers les naseaux. La sécrétion se poursuit normalement 4 à 6 minutes. L'administration préalable d'un anti-cholinestérasique prolonge la lacrymation tandis que celle d'un parasympatholytique atténue ou inhibe ce phénomène rapide et fugace toujours renouvelable au bout de quinze minutes.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Le test est pratiqué sur des rats femelles de même âge, de souche " Sprague Dawley ", d'un poids de 200 g.

2) Conditions expérimentales :

Nous avons injecté la veille de l'expérience à chaque animal 0,250 mg par 100 g de poids corporel d'acétyl β méthylcholine afin de vérifier la réponse lacrymale des animaux choisis. Le lendemain, on renouvelle l'injection intrapéritonéale d'acétylβméthylcholine à la même dose.

Au temps 0 : on injecte en intra-péritonéale l'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par kg, c'est-à-dire au 1/10 de la DL 50. Puis au temps 3, 15, 45 et 75 minutes, on pratique des injections renouvelées d'acétyl β métylcholine à la dose de 0,250 mg par 100 g de poids corporel.

Une demi-heure après l'injection de la substance cholinergique, on cherche à mettre en évidence la lacrymation par absorption sur papier filtre. Si le phénomène n'est pas apparu au bout de trois minutes, sa venue est considérée comme improbable et la protection entière.

C - Résultats :

Après injection d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par kg,suivie d'une injection d'acétyl β métylcholine à la dose de 0,250 mg pour 100 g de poids corporel, au temps trois minutes, quinze, quarante cinq et soixante quinze minutes, le rat présente une lacrymation rouge brûnatre. Il n'y a donc pas inhibition de ce phénomène.

VII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE SPASMOLYTIQUE IN VIVO DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

Test de la bouillie de charbon chez le rat éveillé.

L'activité spasmolytique a été recherchée suivant la méthode de MACHT (142) et VISSCHER (252).

A - Principe :

Toute drogue spasmolytique inhibe en partie le péristaltisme de l'intestin. Administrée en intra-péritonéale trente minutes avant l'épreuve à la bouillie charbonnée, elle s'opposera à la progression de ce bol alimentaire.

L'autopsie pratiquée vingt minutes après le gavage, révèle un segment d'intestin contenant la bouillie, beaucoup plus court.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi des rats adultes d'un poids voisin de 200 g.

2) Conditions expérimentales :

Le rat éveillé soumis à une diète alimentaire totale depuis 24 heures reçoit par sonde gastrique une bouillie de charbon de 2 ml (suspension à 10 p. cent de charbon végétal dans du sirop de gomme).

Nous avons réparti les rats en 3 lots.

Lot I ou lot témoin : les rats de ce lot reçoivent 0,5 ml de soluté physiologique chloruré sodique en intra-péritonéale.

Lot II : reçoit le médicament de référence (l'atropine) en intra-péritonéale à la dose de 1 mg par kg et 2 mg par kg.

Lot III : reçoit la solution d'hydroxamate 0,5 ml en intra-péritonéale à la dose de 45 mg par kg et 90 mg par kg.

La solution est faite dans l'eau distillée.

Après avoir laissé les animaux au repos durant 30 minutes, on leur administre 2 ml de bouillie de charbon.

20 minutes après l'ingestion, l'animal est sacrifié, on effectue une laparotomie. On isole l'intestin grêle On note le point extrême parcouru par la bouillie.

C - Résultats :

Ils sont exprimés en pourcentage d'intestin grêle imprégné de bouillie de charbon, calculé suivant la formule :

$$\frac{100 \times l}{L}$$

l = longueur d'intestin grêle im prégné de charbon
L = longueur totale de l'intestin grêle

D - Conclusion :

Par le test à la bouillie de charbon, nous avons constaté une légère activité spasmolytique après administration intra-péritonéale aux doses de 45 mg et 90 mg par kg.

En fait, cette action semblerait plutôt être due à une diminution des contractions propres de l'intestin.

VIII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE SPASMOLYTIQUE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM SUR LE DUODENUM ISOLE DE RAT

La recherche de l'activité spasmolytique a été recherchée selon la technique de MAGNUS (143, 40).

A - Principe :

En comparant les résultats obtenus, vis-à-vis des spasmes provoqués du duodénum isolé de rat par l'acétylcholine, parasympathomimétique type, ou par le chlorure de baryum qui agit seulement sur le muscle lisse, il sera possible de discriminer le caractère prédominant que risque éventuellement de posséder la substance à étudier à l'égard de l'acétylcholine et d'apprécier quantitativement son activité.

B - Technique :

Le montage de ces préparations a nécessité l'emploi d'un bain-marie thermostatique type VALETTE pour organes isolés d'animaux homéothermes.

1) Choix des réactifs :

Le duodénum isolé de rat est immergé dans un bain nourricier le liquide de Tyrode dont la formule est la suivante :

Chlorure de sodium	8 g
Chlorure de potassium	0,2 g
Chlorure de calcium	0,2 g
Chlorure de magnésium	0,1 g
Glucose	1 g
Carbonate monosodique	1 g environ de façon à obtenir un pH de 7,2
Eau distillée	q.s.p. 1.000 ml

Toutes les solutions de substances à essayer sont effectuées dans le liquide de Tyrode à 37°

2) Choix des animaux :

Sur un rat blanc de race " Sprague Dawley " d'un poids de 150 à 200 g à jeun depuis 24 heures, saigné par section des carotides, nous avons prélevé rapidement par laparotomie médiane, un fragment de 6 à 8 cm de duodénum dès la fin de l'estomac en éliminant le sphincter pylorique, et libéré de son mésentère.

Immergé sans tarder dans le bain de Tyrode froid, il est vidé de son contenu par lavages successifs à la seringue. On isole un fragment de 1 à 2 cm limité à ses deux extrémités par deux ligatures lâches qui serviront secondairement à le relier à la tige support et au levier du stylet enregistreur.

Ainsi paré, l'organe est installé dans la cuve d'expérimentation remplie de tyrode jusqu'au trait de jauge (20 ml) et convenablement aéré, cette dernière est toujours plongée dans le bain thermostatique réglé à 37° . Le duodénum isolé y est abandonné à un repos de 20 minutes environ interrompu seulement par plusieurs lavages successifs au tyrode tiédi. L'expérimentation commence lorsque le segment est stabilisé, la décontraction achevée.

C - Protocole expérimental :

1) Action sur la motilité spontanée

On examine l'effet propre à des doses croissantes.

Ainsi, nous avons introduit dans la cuve successivement 0,5 ml d'une solution à 5 - 10 - 1 - 1,5 - 2,5 - 5 et 7,5 mg. Nous avons constaté une diminution des contractions propres du duodénum à partir de la dose de 1 mg c'est-à-dire à 5×10^{-5} g/ml.

2) Recherche de l'activité spasmolytique

a) Contracturant : acétylcholine

Des doses d'acétylcholine de l'ordre de 0,5 à 3 microgrammes sont capables de provoquer sur le duodénum une contraction de 2 à 4 cm de hauteur sur le tracé

du cylindre tournant. L'essai est répété plusieurs fois jusqu'à obtenir pour une même dose, une réponse identique. Trois lavages au tyrode tiédi et un repos de 5 minutes entre deux essais sont nécessaires.

Le spasmolytique à tester en l'occurence, l'hydroxamate de sodium est introduit dans la cuve 30 secondes avant une nouvelle addition d'acétylcholine. On observe le pourcentage d'inhibition. Le sulfate d'atropine sera utilisé comme spasmolytique de référence à des doses de 0,02 à 0,4 microgrammes.

A la fin de chaque expérience, on refait le test banal de contraction pour obtenir des données sur la réversibilité des actions spasmolytiques ainsi que sur l'évolution spontanée des réponses du duodénum.

b) Contracturant : chlorure de baryum (251)

Le spasmolytique de référence est ici le chlorhydrate de papavérine relaxant de la musculature lisse à des doses de 50 à 100 microgrammes.

Le protocole expérimental est en tous points semblable à celui décrit à propos de l'acétylcholine . On introduit donc le spasmolytique puis 30 secondes plus tard, le chlorure de baryum à des doses de l'ordre de 1 à 2 mg.

Les lavages devront être plus nombreux et plus rapides pour tenter de limiter la sensibilisation très grande du duodénum à ce poison musculaire qu'est le chlorure de baryum.

D - Résultats :

Ils portent sur 10 animaux.

1) Contracturant : acétylcholine.

Des doses d'hydroxamate de sodium de l'ordre de $1,25.10^{-4}$ g par ml, $2,5.10^{-4}$ g par ml, $3,75.10^{-4}$ g par ml, 5.10^{-4} g par ml, ont été introduites dans la cuve jaugée sans qu'il y ait eu un changement sur la hauteur de contraction après introduction d'acétylcholine. Il n'y a donc aucun pouvoir spasmolytique de l'hydroxamate.

2) Contracturant : chlorure de baryum

Des doses d'hydroxamate de sodium de l'ordre de $2,5.10^{-4}$ g par ml, $3,75.10^{-4}$ g par ml, 5.10^{-4} g par ml, $7,5.10^{-4}$ g par ml, ont été introduites dans la cuve jaugée sans qu'il y ait eu un changement sur les contractions dûes au chlorure de baryum.

IX - RECHERCHE D'UN POUVOIR HYPOCHOLESTEROLEMIANT DE L'ACIDE CHROMONE HYDROXAMIQUE-2

A - Expérimentation :

Nous avons recherché si l'administration de l'acide chromone hydroxamique-2 chez des coqs pouvait empêcher, retarder ou diminuer l'élévation de la cholestérolémie. L'expérience a porté sur 2 lots de 4 coqs.

Dans le lot I ou lot témoin, les 4 coqs servent de témoins hypercholestérolémiants (450 g de blé + 450 g de pommes de terre +25 g d'huile de coton + 10 g de cholestérol).

Dans le lot II les 4 coqs reçoivent le même régime hypercholestérolémiant et l'acide hydroxamique à la dose de 50 mg par kg par jour.

Des prises de sang sont effectuées sur tous les coqs avant le début du régime et après les 5 jours de traitement. Le sang est recueilli sans anticoagulant.

B - Résultats :

On a mesuré le taux de cholestérol sérique selon la méthode de ZAK (271).

Le taux moyen de cholestérol sérique chez le coq est de 1,20 à 2 g par litre.

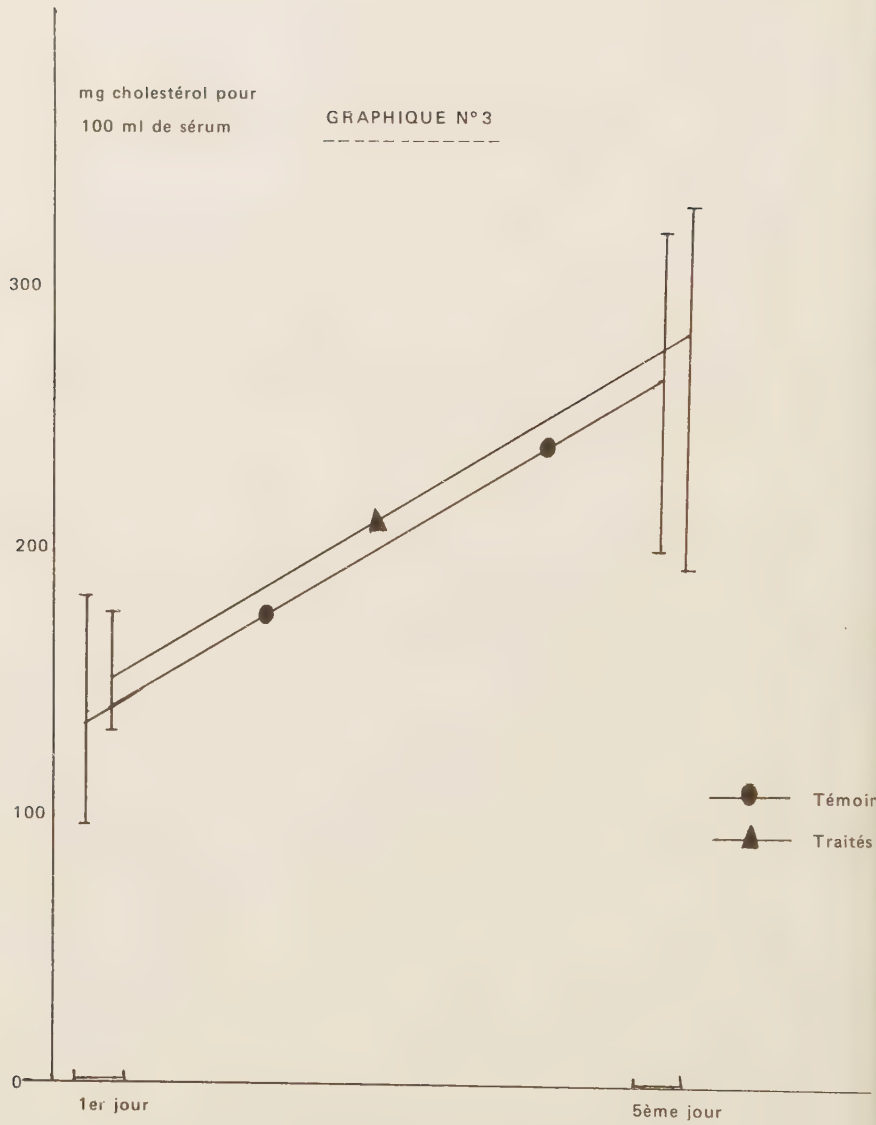
Nous avons condensé les résultats dans le tableau 12 ci-joint et les courbes (graphique n° 3).

TABLEAU 12 :

	Lot I Témoins hypocholes-térolémiants	Lot II Traités à l'acide hydro-xamique
Avant le début du régime	135 - 95 - 178 - 143 Moyenne = 137,5 mg/ml	129 - 129 - 173 - 161 Moyenne = 148 mg/100ml
Après les 5 jours de traitement	255 - 193 - 310 - 279 Moyenne = 259 mg/100 ml	275 - 186 - 318 - 321 Moyenne = 275 mg/100ml

C - Conclusion

L'acide chromone hydroxamique-2 ne possède aucun pouvoir hypocholestérolémiant.



Action de l'acide chromone hydroxamique-2 chez le coq soumis à un régime hypercholestérolémiant

X - RECHERCHE D'UN EFFET ANTI-ULCEREUX DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

L'étude des médicaments anti-ulcéreux a été effectuée selon la technique de ROSSI (213) et BONFILS (25).

A - Principe :

L'ulcère de contrainte est un ulcère psychogène.

La contrainte physique et psychique par immobilisation du rat entraîne chez cet animal le développement d'un ulcère.

Ces ulcérations sont caractérisées par des tâches noirâtres hémorragiques dans la partie glandulaire de l'estomac.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

On a sélectionné 3 lots de 10 rats femelles d'un poids compris entre 130 et 160 g. Ces rats ne sont pas mis à jeun avant la mise en contrainte.

Le lot I sera le lot témoin, les rats du lot II reçoivent l'atropine (médicament de référence), le lot III reçoit l'hydroxamate de sodium.

2) Conditions expérimentales :

Les rats (non à jeun) sont maintenus en contrainte durant 24 heures et reçoivent des injections intramusculaires de médicament une demi-heure avant la mise en contrainte.

- Dans le lot témoin, les rats reçoivent par voie intra-musculaire 1,5 ml de sérum physiologique dans chacune des pattes postérieures.

- Dans le lot traité à l'atropine, les rats reçoivent par voie intra-musculaire 1,5 ml de sérum physiologique dans l'une des pattes postérieures, l'autre patte reçoit par voie intra-musculaire 20 mg par kg d'atropine sous forme d'une solution à 2 mg par ml.

- Dans le lot traité par l'hydroxamate de sodium, les rats reçoivent par voie intra-musculaire, 1,5 ml de sérum physiologique dans l'une des deux pattes postérieures, l'autre patte reçevant par voie intra-musculaire une dose d'hydroxamate de sodium sensiblement égale au 1/10e de la DL 50 soit 45 mg par kg. (le volume injecté restant 1,5 ml par rat de 150 g).

Chaque rat est ensuite immobilisé dans un grillage souple (type garde-manger) percé de quatre trous à l'emplacement des pattes. Les pattes du rat sont attachées entre elles deux à deux par un ruban de leucoplast. Puis le grillage est rabattu sur le dos de l'animal sans trop le serrer. Cette fermeture est également maintenue à l'aide de leucoplast. Le rat ainsi immobilisé est suspendu horizontalement.

C - Résultats :

A la fin de la contrainte (24ème heure) tous les rats sont sacrifiés et les estomacs sont prélevés et ouverts selon leur grand axe : l'estomac est considéré comme ulcéré lorsqu'il présente une seule ou plusieurs lésions gastriques.

Sur 30 rats traités seuls les rats traités,à l'atropine ne présentaient pas d'ulcère. L'hydroxamate ne présente donc aucun pouvoir anti-ulcéreux.

XI - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM SUR LA TENSION ARTERIELLE CHEZ LE LAPIN

La mesure de la tension artérielle chez le lapin a été effectuée selon la technique de GAUTRELET (79).

A - Principe :

Chez le lapin albinos anesthésié à l'uréthane, on enregistre la pression artérielle.

B - Conditions expérimentales :

Après anesthésie d'un lapin de 4 kg environ par injection intra-péritonéale, d'uréthane à raison de 1 g par kg sous forme de solution à 0,5 g par ml, il est procédé à la mise en place d'une canule dans l'artère carotide reliée à un manomètre à mercure (type Ludwig) rempli d'une solution anti-coagulante (sulfate de Na : 100 g, sulfate de magnésium 100 g, eau q.s.p. 1 litre). Dans la veine saphène externe, on introduit une canule physiologique. L'injection des composés à étudier se fera au moyen de cette canule.

C - Essais :

Une injection intra-veineuse de 5 μg par kg d'une solution d'adrénaline provoque une augmentation de la pression artérielle de l'ordre de 35 mm de Hg. La pression revient rapidement à la normale.

Une injection intra-veineuse de 5 μg par kg d'une solution d'acétylcholine provoque une diminution de la pression artérielle de l'ordre de 25 mm de Hg.

Après injection de 10 mg par kg d'une solution

d'hydroxamate de sodium, on n'observe aucune modification de la pression artérielle.

Des doses plus fortes 20 mg par kg et 25 mg par kg n'amènent aucune modification de cette pression.

D - Conclusion :

Chez le lapin, l'injection intra-veineuse d'une solution d'hydroxamate de sodium à des doses de 10, 20, 25 mg par kg n'entraîne aucune modification de la tension artérielle.

XII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM SUR LE COEUR ISOLE DE LAPIN APRES PERFUSION

La perfusion du coeur isolé de lapin a été effectuée selon la technique de LANGENDORFF (132) et EYRAUD (71).

A - Principe :

Par perfusion du coeur isolé de lapin, il est possible d'étudier en particulier l'action d'un médicament sur les deux paramètres cardiaques suivants :

- amplitude des contractions (action inotrope).
- rythme cardiaque (action chronotrope).

B - Technique :

1) Choix de l'animal :

Nous avons pris un lapin jeune mais adulte.

2) Réactifs :

Nous avons pris comme médicament de référence : l'adrénaline. Nous avons injecté 0,5 ml d'une solution à 1 microgramme par ml.

La substance à tester c'est-à-dire l'hydroxamate de sodium est introduite à la dose de 100 microgrammes, 10 mg et 20 mg par ml.

Le liquide nutritif est constitué par :

Chlorure de sodium	9 g.
Chlorure de magnésium	0,005 g
Chlorure de potassium	0,42 g
Chlorure de calcium	0,24 g
Glucose	0,5 g
Bicarbonate de soude	0,5 g
Glycolle	5 g
Eau distillée	q.s.p. 1000 ml.

3) Conditions expérimentales :

Avant d'assomer et d'égorger l'animal, on l'héparine à l'aide d'une solution à 5 p. cent. On ouvre rapidement le thorax en découpant aussi largement que possible le plastron costal. On sectionne les ligaments sterno-cardiaques et on rabat le plastron vers la tête de l'animal.

On isole sur 1 cm au moins une partie de l'aorte thoracique, on la ligature et on la sectionne. Puis on coupe tous les vaisseaux connectés au coeur. On place le coeur dans la solution de liquide nutritif tiédi, on lave soigneusement. On canule alors l'aorte, puis on la ligature fortement.

On adapte immédiatement l'ensemble sur le système de perfusion en veillant à ce qu'il n'y ait aucune bulle d'air, que l'oxygénation soit normale et que la pression de perfusion soit constante et voisine de 45 cm d'eau, que le débit du liquide de perfusion soit régulier, ne contrarie pas le rythme cardiaque. On enregistre les contractions cardiaques au moyen de crochets adaptés au ventricule.

On ajoute les médicaments par injection à travers un tuyau de caoutchouc placé sur le trajet du liquide de perfusion. Les effets des médicaments disparaissent après quelques minutes de lavage par le liquide de perfusion.

C - Résultats :

Cette méthode permet d'enregistrer l'action des médicaments sur la fibre cardiaque.

Ainsi après injection de 0,5 ml d'une solution d'adrénaline à 1 microgramme par ml, on enregistre une action inotrope positive c'est-à-dire une augmentation de l'amplitude des battements cardiaques, suivie d'une action chronotrope positive, c'est-à-dire une augmentation du rythme des battements cardiaques. Puis une action chronotrope positive suivie d'une action inotrope négative c'est-à-dire une diminution de l'amplitude des battements cardiaques.

Après injection de 0,5 ml d'une solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 100 microgrammes par ml, il n'y a aucun changement ni dans l'amplitude des contractions ni sur le rythme cardiaque. Des doses plus fortes 10 mg par ml, 20 mg par ml ne provoquent aucune variation de l'amplitude des contractions ni du rythme cardiaque.

XIII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE VASOCONSTRICTRICE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

I - TEST A LA TEINTURE DE CAPSICUM SUR L'OEIL DU LAPIN.

A - Principe :

La teinture de capsicum est un agent irritant qui crée une vasodilatation des conjonctives bulbaires et palpébrales de l'oeil.

Cette vasodilatation est pratiquement instantanée et dure environ 6 à 8 heures.

On teste la valeur d'un vasoconstricteur :

- à la rapidité avec laquelle il ramène un oeil sous teinture de capsicum à son aspect normal (temps de pénétration)
- à la durée pendant laquelle il maintient cette vasoconstriction (puissance de durée d'action).

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi des lapins albinos, la vasodilatation étant plus visible chez les animaux de cette race.

2) Conditions expérimentales :

- au temps 0 : chaque lapin reçoit 3 gouttes de teinture de capsicum pure dans les deux yeux. On attend que la vasodilatation soit très marquée ce qui est en général très rapide.

- au temps 1 : l'oeil droit du lapin reçoit 2 à 3 gouttes du vasoconstricteur en l'occurence l'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par ml. L'oeil gauche ne reçoit rien et

servira de point de repère pour apprécier la vasoconstriction de l'oeil droit.

C - Résultats :

Après instillation d'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par ml il ne se produit aucune vasoconstriction, l'oeil traité ne présente aucune différence avec l'oeil témoin.

Des doses plus fortes 200 mg par ml ne produisent aucune vasoconstriction.

II - PERFUSION IN SITU DES VAISSEAUX DE L'OREILLE DE LAPIN :

La perfusion in situ des vaisseaux de l'oreille de lapin a été effectuée selon la méthode de SAVINI (217).

A - Principe :

L'artère centrale de l'oreille isolée de lapin est perfusée à l'aide d'un soluté physiologique chloruré sodique, auquel on additionne à intervalles de temps réguliers de l'adrénaline et le produit à tester en l'occurence l'hydroxamate de sodium. L'effet vasoconstricteur est mesuré par le nombre de gouttes de perfusat qui est enregistré avant et après administration des médicaments.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons utilisé des lapins d'âge 6, 8 mois de sexe et de race indifférents.

2) Réactifs :

On utilise le soluté physiologique de PAGE et GREEN répondant à la formule suivante :

Chlorure de sodium	8,20 g
Chlorure de potassium	0,84 g
Chlorure de calcium	0,04 g
Chlorure de magnésium	0,06 g
Bicarbonate de sodium	0,40 g
Glucose	1,00 g

A chaque litre de la solution mère ci-dessus on rajoute 10 ml de mélange :

{ 4 volumes de sol. molaire de phosphate dipotassique
1 volume de sol. molaire de phosphate monopotassique

3) Conditions expérimentales :

Après avoir tué le lapin et l'avoir saigné, on prélève les deux oreilles, le plus bas possible, au niveau de la partie fibro-cartilagineuse du pavillon. L'artère auriculaire centrale est située près de cette partie fibro-cartilagineuse. Après avoir ligaturé l'extrémité de cette artère, on la dégage sur environ 1 cm. On l'incise pour introduire la canule en polyéthylène que l'on ligature avec l'artère au moyen d'un fil.

On introduit immédiatement une certaine quantité de soluté physiologique dans l'artère afin de la laver. Puis on fixe l'oreille sur une planchette inclinée. On abouche la canule en polyéthylène au tube relié au réservoir de soluté physiologique. On règle la vitesse de perfusion à 50 gouttes par minute, chaque goutte tombe sur une palette reliée à un système de capsules de Marey. Ainsi à chaque goutte s'inscrit une encoche au niveau du cylindre enregistreur.

La sensibilité de la préparation doit être maintenue constante à l'aide d'injections régulières d'adrénaline. Toutes ces injections sont faites lentement à intervalles de temps réguliers (toutes les 5 minutes), à volume constant (1ml) à travers le bouchon en caoutchouc d'un petit tube de verre placé à l'arrière du liquide de perfusion dans l'artère.

Dans le cas de l'adrénaline, on a injecté 0,5 microgramme par ml.

En ce qui concerne l'hydroxamate de sodium, nous avons injecté des doses de 10, 1 et 0,1 mg par ml.

C - Résultats :

Après injection de substances vasoconstrictrices comme l'adrénaline, il y a diminution du débit, diminution que l'on repère sur le cylindre par un plus grand écart entre deux encoches.

Après injection de l'hydroxamate de sodium, il ne se produit aucune diminution du débit. Il n'a donc aucune propriété vasoconstrictrice .

XIV - RECHERCHE D'UN EFFET ANTI-CONVULSIVANT DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

L'étude des anti-convulsivants a été effectuée selon la méthode de MEUNIER et LEBRETON (150,133).

A - Principe :

Différentes techniques sont utilisées pour reproduire de manière imparfaite les formes cliniques de l'épilepsie humaine. Les différentes crises convulsivantes peuvent être dues :

- à des décharges électriques : crises électriques
- à des sons plus ou moins aigüs : crises audiogènes
- à des moyens chimigues : crises pentétrazoliques, strychniniques.

Dans les deux techniques d'étude des anti-convulsivants, que nous avons utilisées, les convulsions sont reproduites par l'injection de pentétrazol ou par voie sous-cutanée de strychnine déclenche des convulsions caractérisées par des crises clonicotoniques souvent mortelles. L'administration préalable d'un anti-convulsivant augmente le pourcentage de survie des animaux soumis à l'action des convulsivants.

B - Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons choisi des lots de 10 souris d'un poids homogène.

2) Expérimentation

a) Cas de la crise pentétrazolique

Lot I ou lot témoin : chaque souris de ce lot reçoit une injection intra-veineuse de pentétrazol à raison de 64 mg par kg. La crise clonicotonique mortelle apparaît immédiatement.

Lot II : chaque souris de ce lot reçoit le médicament de référence phénobarbital par voie orale à raison de 30 mg par kg, 30 à 45 minutes avant l'injection intra-veineuse de pentétrazol (64 mg par kg).

Lot III : chaque souris du lot III reçoit la solution d'hydroxamate de sodium à la dose de 200 mg par kg per os, 30 à 45 minutes avant l'injection de pentétrazol (64 mg par kg).

b) Cas de la crise strychninique

Lot I ou lot témoin : chaque souris de ce lot, reçoit une injection sous-cutanée de strychnine à raison de 2 mg par kg. La crise clonicotonique apparaît rapidement.

Lot II : reçoit le médicament de référence phénobarbital, par voie orale à raison de 60 mg par kg, 30 à 45 minutes avant l'injection sous-cutanée de strychnine (2 mg par kg).

Lot III : reçoit la solution d'hydroxamate de sodium (200 mg par kg) per os, 30 à 45 minutes avant l'injection de strychnine (2 mg par kg).

C - Résultats :

Dans les différents lots, de la crise pentétrazolique et de la crise strychninique, on note l'influence des médicaments sur le pourcentage de survie des animaux. Ces résultats sont consignés dans les tableaux 13 et 14 ci-joints.

TABLEAU 13 : Crise pentétrazolique

Anti-convulsivants	Convulsivants	Pourcentage de survie
Phénobarbital 30 mg/kg per os	Cardiazol 64 mg/kg I.V.	100 %
Hydroxamate 200 mg/kg per os	Cardiazol 64 mg/kg I.V.	0 %
Témoins	Cardiazol 64 mg/kg I.V.	10 %

TABLEAU 14 : Crise strychninique

Anti-convulsivants	Convulsivants	Pourcentage de survie
Phénobarbital 60 mg/kg per os	Strychnine 2 mg/kg s.c.	100 %
Hydroxamate 200 mg/kg per os	Strychnine 2 mg/kg s.c.	0 %
Témoins	Strychnine 2 mg/kg s.c.	0 %

D - Conclusion

L'administration per os d'une solution d'hydroxamate de sodium à raison de 200 mg par kg ne possède aucune protection vis-à-vis de la crise convulsivante.

Nous avons essayé à plus fortes doses (400 mg par kg ; 500 mg par kg).

X V - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE DIURETIQUE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

A - Technique :

Des rats mâles, pesant entre 200 et 250 g sont maintenus à jeun pendant 18 heures.

Au temps 0, on leur donne à l'aide d'une sonde oesophagienne, la quantité choisie de diurétique maintenus en suspension à l'aide de gomme adragante dans le soluté salé isotonique à la dose de 1 ml par 100 g de poids corporel. Les rats témoins reçoivent au temps 0, 1 ml pour 100 g de poids corporel, le soluté salé isotonique.

Les animaux sont maintenus cinq heures dans des cages individuelles. On recueille l'urine au bout de 5 heures, on effectue le dosage du sodium,du potassium, des chlorures.

B - Résultats :

Les essais ont été effectués sur 24 rats mâles à la dose de 50 mg par kg. On a constaté que l'hydroxamate de sodium ne possédait aucune propriété diurétique. Les dosages du sodium, du potassium et des chlorures n'ont fourni aucun résultat intéressant.

XVI - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-HISTAMINIQUE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM SUR L'ILEON DE COBAY

Cette technique a été effectuée selon la méthode de MAGNUS, COHEN et HUIDOBRO (143, 40, 105).

A - Principe :

On va rechercher la dose d'anti-histaminique qui, laissée en contact trente secondes avec la préparation, amène une réduction de 50 p. cent de la contraction due à l'histamine.

B - Technique :

1) Choix du matériel :

Le montage de cette préparation a nécessité l'emploi d'un bain-marie thermostatique type Valette pour organes isolés d'animaux homéothermes.

2) Choix des réactifs

On utilise du liquide de Tyrode que l'on maintient à 33° C

Chlorure de sodium	8 g
Chlorure de potassium	0,2 g
Chlorure de calcium	0,2 g
Chlorure de magnésium	0,1 g
Glucose	1 g
Carbonate monosodique	1 g environ pour obtenir un pH de 7,2
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

On ajoutera 0,25 mg par litre de sulfate d'atropine pour neutraliser les effets éventuels de l'acétylcholine.

3) Choix des animaux

Sur un cobaye de 300 g environ, sacrifié par section des carotides on prélève rapidement par laparotomie médiane un fragment de la portion terminale d'iléon qui est libéré du mésentère et débarrassé de son contenu par lavage à la seringue. Un fragment de 1,5 cm de long est placé dans la cuve de 20 ml de capacité. On laisse reposer 30 minutes au minimum, en renouvelant le liquide de tyrode oxygéné.

C - Protocole expérimental :

On sensibilise l'iléon par addition de 1 microgramme d'histamine, on laisse agir 20 secondes puis on lave à trois reprises. On attend quelques minutes entre deux additions.

Après avoir obtenu deux contractions témoins d'amplitude convenable, on fait agir durant 30 secondes le dérivé à étudier comme anti-histaminique puis l'histamine à la dose de la contraction témoin précédente. Ensuite, on refait deux contractions témoins d'histamine.

D - Résultats :

Nous avons fait agir l'hydroxamate de sodium à la dose de 10^{-3} g par ml, 5.10^{-4} g par ml. $2{,}5.10^{-4}$ g par ml.

A la dose de $2{,}5.10^{-4}$ g par ml, nous avons une diminution de 50 p. cent de la contraction témoin provoquée par l'histamine. L'hydroxamate de sodium a donc un léger effet anti-histaminique.

XVII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-TUSSIVE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

Cette technique a été effectuée selon la méthode des aérosols tussigènes chez le cobaye de CHARBIER (34).

A - Principe :

Une toux expérimentale est provoquée chez le cobaye par inhalation d'aérosol tussigène d'acide citrique.

L'anti-tussif administré 30 minutes avant l'aérosol diminue le nombre de quintes de toux observées en un temps donné. On le compare avec un antitussif de référence la codéine.

B - Technique :

Nous avons utilisé des cobayes d'un poids compris entre 350 et 400 g. On les soumet durant cinq minutes à un aérosol d'acide citrique à 10 p. cent. Quatre ou cinq jours avant, nous avons essayé les cobayes et retenu uniquement les animaux présentant au moins 15 quintes de toux en cinq minutes.

Nous avons réparti ces animaux en plusieurs lots :

- Lot I reçoit la codéine à raison de 40 mg par kg par voie sous-cutanée
- Lot II reçoit uniquement du sérum physiologique
- Lot III reçoit le produit à tester : l'hydroxamate de sodium à la dose de 45 mg par kg par voie sous-cutanée.

Tous les animaux sont soumis aux aérosols d'acide citrique 30 minutes après l'administration de l'anti-tussif.

C - Résultats :

On fait une moyenne pour chaque lot, le témoin étant amené à 100 p. cent; on exprime l'activité des anti-tussifs en pourcentage de diminution du nombre de quintes par rapport aux témoins.

D - Conclusion :

L'administration d'une solution d'hydroxamate de sodium ne diminue pas le nombre de quintes de toux chez le cobaye soumis à un aérosol d'acide citrique.

XVIII - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE DE L'ACIDE CHLORO-6-CHROMONE HYDROXAMIQUE-2

Nous avons recherché sur le dérivé chloré de l'acide chromone hydroxamique-2 quelques propriétés pharmacodynamiques.

I - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE.

Cette recherche a été effectuée comme pour l'hydroxamate de sodium selon la technique de HILLEBRECHT (101).

L'hydroxamate chloré est administrée par voie orale à la dose de 90 mg par kg.

Nous avons pu constater une nette augmentation de l'oedème de la patte chez les rats traités par rapport aux animaux témoins. Trois heures après la piqûre inflammatoire, le pourcentage d'inflammation chez les animaux traités est de 102 p. cent alors que chez les témoins il n'est que de 70 p. cent.

Les animaux traités par la phénylbutazone, trois heures après, présentent un pourcentage d'inflammation de 30 p. cent.

II - RECHERCHE D'UNE ACTIVITE ANTI-ALGIQUE

a) Test de KOSTER à l'acide acétique :

L'étude de l'activité anti-algique a été effectuée comme pour l'hydroxamate de sodium selon la technique de KOSTER (128), HENDERSHOT (97) et WITKIN (246).

L'hydroxamate chloré est administré par voie orale à la dose de 200 mg par kg.

Le pourcentage d'analgésie nous a montré que l'administration d'une solution d'hydroxamate chloré ne produit aucune activité anti-algique.

b) Test de WOOLFE - MAC DONALD

L'étude de l'activité anti-algique a été effectuée comme pour l'hydroxamate de sodium selon la méthode de WOOLFE, MAC DONALD (265) et JACOB (114).

L'hydroxamate chloré est administré par voie intra-péritonéale à la dose de 45 mg par kg. Nous avons essayé à plus forte dose : 160 mg par kg. Mais ni à 45 mg par kg, ni à 160 mg par kg, nous n'avons pu constater d'activité anti-algique.

QUATRIEME PARTIE

Etude enzymologique

Nous avons recherché les variations d'activité des enzymes suivantes, après injection chez le rat d'une solution d'hydroxamate de sodium.

- Activité lactate déshydrogénasique
- Activité transaminasique
- Activité adénosine triphosphatasique

Nous avons également essayé le pouvoir hépatoprotecteur de l'hydroxamate de sodium dans l'intoxication expérimentale du rat par le tétrachlorure de carbone.

GENERALITES

I - ANIMAUX ET TRAITEMENTS EXPERIMENTAUX :

Les animaux que nous avons utilisés pour notre expérimentation, sont des râts mâles albinos de couche "Sprague Dawley " d'un poids voisin de 150 g élevés à l'animalerie où ils reçoivent une alimentation standard équilibrée (Provende U.A.R., eau fraîche à volonté).

Mode d'administration

Les animaux reçoivent deux injections de 1 ml de solution aqueuse d'hydroxamate de sodium à la dose de 4 mg par kg. La seconde injection a lieu 15 heures après la première.

II - PRELEVEMENTS ET PREPARATIONS ENZYMATIQUES

Les animaux sont sacrifiés trois heures après la seconde administration du produit.

- les foies sont aussitôt prélevés, pesés, homogénéisés au 1/10 durant trente secondes dans de l'eau distillée glacée à l' Ultra-Turrax. L'homogénat est dilué au 1/20, 1/40, 1/200, 1/400, 1/500, 1/1000, 1/2000 selon l'enzyme à doser.

- les cerveaux sont prélevés par section de la calotte cranienne et homogénéisés comme il est décrit pour les foies.

- Le sang est prélevé avant le sacrifice de l'animal par ponction cardiaque et recueilli sur héparine sèche (1 mg pour 10 ml).

- le plasma est utilisé après dilution au 1/10 et 1/20.

- les hématies sont hémolysées dans l'eau distillée, après trois lavages au sérum physiologique, puis diluées au 1/400, 1/500, 1/800 et 1/1000.

III - EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats sont exprimés en micromoles de substrat métabolisé par gramme de tissu frais par minute. Ces résultats sont accompagnés de la valeur α donnant l'intervalle de confiance à 95 p. cent et calculés d'après la formule suivante :

$$\alpha = t \times \sqrt{\frac{\epsilon (M - Mx)^2}{n (n - 1)}}$$

t = coefficient donné par les tables de STUDENT
ϵ = somme
M = moyenne des essais
Mx = valeur trouvée pour chaque expérience
n = nombre d'expériences

ACTIVITE LACTATE DESHYDROGENASIQUE
(1.1.1.27)

La lactate déshydrogénase catalyse la réaction :

Acide pyruvique + $N.A.D.H_2$ $\xleftrightarrow{L.D.H.}$ Acide lactique + N.A.D.

Cette réaction constitue une étape importante du catabolisme glucidique en anaérobiose.

La mesure de cette activité enzymatique permet de déceler des variations dans certains états pathologiques comme l'infarctus du myocarde, les hépatites aigües, les myopathies et certaines leucémies. Les variations d'activité ont une signification clinique voisine de celles des amino-transférases G.O.T. et G.P.T.

I - DOSAGE

Le lactate déshydrogénase est dosée selon la méthode de CABAUD et WROBLEWSKI (32) modifiée (12).

Le dosage est basé sur la transformation de l'acide pyruvique en présence de $N.A.D.H_2$ en acide lactique et N.A.D. sous l'influence de la lactate déshydrogénase. L'acide pyruvique restant réagit avec la 2-4 dinitro phénylhydrazine pour former une hydrazone dont la coloration est appréciée au photocolorimètre à 525 nm.

L'étalonnage se fait à l'aide d'une solution de pyruvate.

II - RESULTATS

L'incubation a lieu pendant 15, 30, 60 minutes dans un bain-marie à thermostat réglé à +37°

Les dilutions utilisées sont :

- pour le foie et le cerveau 1/500, 1/1000
- pour le plasma : 1/10, 1/20
- pour les hématies : 1/400, 1/800.

Pour chaque organe ou tissu, les résultats moyens M relatifs à plus de dix expériences exprimés en μ moles de pyruvate non métabolisé par gramme de tissu frais par minute et accompagnés de la valeur α (intervalle de confiance 95 p cent) figurent au tableau 15.

TABLEAU 15 : Activité lactate déshydrogénasique

Tissus	Témoins		Traités	
	M	α	M	α
Foie	170	0,374	166	0,427
Cerveau	80	0,176	85	0,369
Plasma	1,8	0,120	1,6	0,120
Hématies	64	0,134	66	0,153

III - DISCUSSION

L'étude des différents résultats obtenus tend à montrer que l'activité lactate déshydrogénasique est presque aussi importante dans le cerveau que dans le foie de rat. Une teneur également importante peut être décelée dans les hématies.

L'administration chez le rat par voie parentérale d'une solution d'hydroxamate de sodium ne provoque pratiquement aucune variation de cette activité enzymatique.

ACTIVITE TRANSAMINASIQUE

(2.6.1.1.)

Les transaminases catalysent le transfert du groupement NH_2 d'un acide aminé sur un acide cétonique.

Ce processus de transamination, intéresse la majeure partie des acides aminés et constitue une réaction importante de leur métabolisme. L'activité transaminasique que nous avons étudié est l'activité " glutamic oxaloacetic transaminase " ou G.O.T. qui catalyse la réaction suivante :

$$\alpha\text{-cétoglutarate} + \text{L. aspartate} \xrightarrow{\text{G.O.T.}} \text{glutamate} + \text{oxaloacétate}$$

I - DOSAGE

La technique utilisés est celle de REITMAN et FRANKEL (207), elle consiste à mesurer le taux de pyruvate formé par appréciation photocolorimétrique de leurs hydrazones.

L'étalonnage est fait avec une solution de pyruvate de sodium.

II - RESULTATS

L'incubation a lieu pendant 30 et 60 minutes à +37° .

Les dilutions utilisées sont pour le foie et pour le cerveau : 1/200 et 1/400.

Les résultats moyens M relatifs à plus de dix expériences, exprimés en μmoles de pyruvate formé par gramme de tissu frais par minute et accompagné de la valeur α (intervalle de confiance 95 p. cent), dans les différents organes, figurent au tableau 14.

TABLEAU 14 : Activité transaminasique G.O.T.

Tissus	Témoins		Traités	
	M	α	M	α
Foie	2260	16,905	2330	21,080
Cerveau	2000	26,230	1900	22,970

III - DISCUSSION

L'étude des différents résultats obtenus tend à montrer que :

- l'activité G.O.T. est presque aussi importante dans le cerveau que dans le foie
- l'administration chez le rat par voie parentérale d'une solution d'hydroxamate de sodium ne provoque pratiquement aucune modification de cette activité enzymatique.

ACTIVITE ADENOSINE TRIPHOSPHATASIQUE

(3.6.1.3.)

L'A.T.Pase ou A.T.P phosphohydrolase catalyse la libération de l'orthophosphate terminal à partir de l'adénosine triphosphate (A.T.P.) par scission de la liaison anhydre phosphorique riche en énergie.

La réaction a lieu selon le schéma suivant :

$$\text{A.T.P.} + \text{eau} \xrightarrow{\text{A.T.Pase}} \text{A.D.P.} + \text{Acide phosphorique}$$

Cette enzyme joue donc un grand rôle dans tous les phénomènes biologiques où l'A.T.P. intervient comme donneur d'énergie.

I - DOSAGE

L'activité de l'A.T.Pase est appréciée selon la méthode de PERRY (197) modifiée (53). Elle consiste en un dosage photocolorimétrique à 650 nm du phosphore inorganique libéré par l'enzyme à partir de l'A.T.P. en présence d'ions Ca^{+} activant l'enzyme à + 25° . L'étalonnage se fait à l'aide d'une solution de phosphate monopotassique.

II - RESULTATS

- L'incubation a lieu pendant 5 et 10 minutes à +25°
- Les dilutions utilisées sont pour le foie : 1/20 et 1/40, pour le cerveau : 1/10 et 1/20.
- Les résultats moyens M relatifs à plus de dix expériences exprimés en μmoles de phosphate libéré par gramme de tissu frais par minute et accompagnés de la valeur α (intervalle de confiance 95 p. cent) figurent au tableau 15.

TABLEAU 15 : Activité adénosine triphosphatasique

Tissus	Témoins		Traités	
	M	α	M	α
Foie	33,6	0,761	24	1,062
Cerveau	16,2	0,492	22,2	1,008

III - DISCUSSION

L'étude des différents résultats obtenus tend à montrer que :

- l'activité de l'A.T.Pase paraît un peu plus importante dans le cerveau que dans le foie.
- l'administration chez le rat par voie parentérale d'une solution d'hydroxamate de sodium provoque une légère augmentation de l'activité enzymatique dans le cerveau et une légère diminution dans le foie.

RECHERCHE D'UNE ACTIVITE HEPATO-PROTECTRICE DE L'HYDROXAMATE DE SODIUM

Cette méthode a été effectuée selon la technique de GILBERT (83) et d'après un brevet américain (167).

I - TECHNIQUE

Comme pour les études enzymatiques précédentes, nous avons utilisé des rats mâles de souche " Sprague Dawley ", d'un poids voisin de 150 g.

Après les avoir répartis en 4 lots, on administre:

- Lot I : 3,75 ml d'huile de paraffine par kg de poids corporel, par tubage gastrique.
- Lot II :5 ml par kg de poids corporel d'une solution à 25 p. cent de tétrachlorure de carbone dans l'huile de paraffine, toujours par tubage gastrique.
- Lot III :injection intra-péritonéale d'une solution aqueuse d'hydroxamate de sodium à raison de 45 mg par kg de poids corporel.
- Lot IV : même injection que pour le lot III, suivie de l'administration par tubage gastrique de 5 ml par kg de poids corporel, d'une solution à 25 p. cent de tétrachlorure de carbone dans l'huile de paraffine.

Tous les animaux sont soumis au jeûne puis sacrifiés 17 heures plus tard.

On effectue, alors le dosage de la lactate déshydrogénase dans le foie, les hématies et le plasma selon les techniques précédemment décrites.

II - RESULTATS

- L'incubation a lieu pendant 15, 30, 60 minutes à + 37° .
- Les dilutions utilisées sont :
  - pour le foie : 1/1000, 1/2000
  - pour les hématies : 1/500, 1/1000
  - pour le plasma : 1/10, 1/20.

- Les résultats moyens M relatifs à plus de dix expériences exprimés en moles de pyruvate non métabolisé, par gramme de tissu frais et par minute et accompagnés de la valeur (intervalle de confiance 95 p. cent) figurent au tableau 16.

III - DISCUSSION

L'étude des différents résultats obtenus tend à montrer que l'activité lactate déshydrogénasique est importante dans le foie. Une teneur également élevée peut-être décelée dans les hématies. Par contre, dans le plasma, l'activité lactate déshydrogénasique est faible.

Cette activité est affectée, 24 heures après l'intoxication au tétrachlorure de carbone, d'une baisse légère mais nette quels que soient la dilution et le temps d'incubation.

L'injection intra-péritonéale d'une solution d'hydroxamate de sodium ne protège pas l'animal lors de l'intoxication au tétrachlorure de carbone au niveau du foie, et des hématies. Par contre, au niveau du plasma, il semble que l'animal soit relativement protégé.

TABLEAU 16 : Activité lactate déshydrogénasique après traitement à l'hydroxamate de sodium et intoxication au tétrachlorure de carbone.

Tissus	Témoins		Traités : CCl_4		Traités : CCl_4 + hydroxamate de Na	
	M	σ	M	σ	M	σ
Foie	170	0,374	150	0,421	153	0,390
Plasma	1,8	0,120	1,5	0,092	1,9	0,095
Hématies	64	0,134	46	0,125	46	0,230

CONCLUSIONS

Pour terminer, nous allons revenir brièvement sur l'origine de notre travail. Il a été situé en effet, sur le double plan de la collaboration entre le Laboratoire de Pharmacie Chimique et le Laboratoire de Chimie Biologique et Pharmacodynamie. C'est cette bipolarité qui a mené nos recherches, depuis la synthèse par des procédés nouveaux de la série des acides chromones hydroxamiques jusqu'à l'étude de leur action pharmacodynamique et enzymologique.

La bibliographie n'indique qu'un petit nombre de travaux effectués sur ce sujet pendant ces vingt dernières années. Seuls quelques auteurs soviétiques se sont intéressés plus particulièrement aux procédés de synthèse de ces composés. En ce qui concerne la partie pharmacodynamique et biochimique , la littérature est encore plus avare de références.

Au cours de notre travail dans le Laboratoire de Pharmacie Chimique avec l'aide et sous la direction bienveillante de Monsieur le Professeur TRONCHE et de Monsieur le Professeur Agrégé COUQUELET, nous avons repris certains éléments de synthèse de nos prédécesseurs, nous en avons étudié les divers stades, modifié les conclusions expérimentales, amélioré les rendements. Nous avons ajouté à cette série, des dérivés à noyau chromones, deux corps : l'acide chromone hydroxamique-2 et son dérivé chloré.

De notre étude pharmacodynamique dans le Laboratoire de Monsieur le Professeur BASTIDE, nous retiendrons les quelques points suivants :

- la toxicité des dérivés que nous avons synthétisé est peu élevée (450 mg par kg par voie intra-péritonéale chez la souris).

- ces produits présentent un effet sédatif à forte dose chez tous les animaux que nous avons utilisés.

- d'autre part, ces composés présentent une légère activité anti-histaminique sur l'iléon isolé de cobaye.

- Le cycle chromone a un tropisme cardiovasculaire, qui se manifeste notamment par l'effet angioprotecteur des sels d'acide chromone carboxylique : nous n'avons pas retrouvé de tels effets.

Afin de compléter nos résultats pharmacodynamiques et sur les conseils de Monsieur le Professeur BASTIDE, nous avons étudié les effets au niveau des métabolismes cellulaires, de l'administration d'acide chromone hydroxamique-2. Parmi les activités enzymatiques étudiées, nous remarquons :

- l'absence d'effet sur l'activité lactate déshydrogénasique du foie, du cerveau et du sang des rats traités par l'hydroxamate de sodium. On peut donc penser que ce composé ne provoque pas de nécrose hépatique et n'interfère pas au niveau du catabolisme glucidique.

- la stabilité de l'activité aminotransférasique et plus particulièrement de la glutamique-oxaloacétqiue transaminase. Elle demeure inchangée dans le foie et dans le cerveau de rats traités par l'hydroxamate de sodium. Ceci tendrait à indiquer que ce produit est dénué d'action hépatotoxique et n'interfère pas au niveau des processus biologiques du métabolisme des protéines.

- le maintien de l'activité adénosine, triphosphatasique lors de l'administration d'hydroxamate de sodium : l'activité de l'A.T.Pase est augmentée dans le cerveau et diminuée dans le foie. Ces variations semblent indiquer que l'hydroxamate de sodium agit d'une façon diamétralement opposée sur le métabolisme énergétique au niveau du foie ou au niveau des centres nerveux supérieurs.

- après intoxication expérimentale au tétrachlorure de carbone, le rôle protecteur, sur l'activité lactate déshydrogénasique, de l'hydroxamate de sodium, n'a pas pu être mis en évidence ni au niveau du foie, ni au niveau des érythrocytes. Seul le taux plasmatique ne semble pas modifié.

En définitive, si l'action thérapeutique de ces produits n'a pas été aussi prometteuse que nous le laissait espérer les dérivés à fonction chromone, nos travaux sur la molécule d'acide chromone hydroxamique pourront ouvrir la voie à des recherches plus fructueuses sur des séries voisines.

Vu, le 21 Juillet 1969

Le Président de Thèse

P. BASTIDE

Vu et Permis d'Imprimer N° Ph 5/69

le 24 Juillet 1969

Le Doyen de la Faculté Mixte de

Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

1 - ALKIEWIEZ (J), ZECKSTEIN, HALWEG (H.), KRAKOWKA (P.), URBANSKI (J.). *Nature*, 1957, 180, 1204-5.

2 - AMOUR (F.E.D.), SMITH (D.L.) - *J.Pharmacol. Exper. Ther.*, 1941, 72, 74.

3 - ARCT (J.), GERWINOKA (E.), ECKSTEIN (Z.), EJMOCKI (Z.), KOWALIK (R.). SOBOTKA (W.), ZAKOWSKI (E.) - *Przemysl. Chem.*, 1964, 43, 332-5.

4 - ASKEW (B.M.) - *Brit. J. Pharmacol*, 1956, 11, 417-23.

5 - ASSELINEAU (J.) - *Bull. Soc., Chim. France*, 1952, 884-91.

6 - ATKINSON (B.), GREEN (A.L.) - *Trans. Faraday Soc.*, 1957. 53, 1334-40.

7 - BACCHETTI (T.), ALEMAGNA (A.) - *Atti. accad. nazl. Lincei. Rend. Classe Sci. fis.*, 1958, 24, 161-3.

8 - BALLS (A.K.) ALDRICH (F.L.) - *Proc. Nat. Acad. Sci.*, U.S.A., 1955, 41, 190-6.

9 - BAROCAS (A.), BARONCELLI (F.), BIONDI (G.B.), GOSSI (G.) - *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1966, 28,(12), 2961-7.

10 - BASS (V.C.), YOE (J.H.) - *Talanta*, 1966, 13,(5), 735-44.

11 - BASTIAN (J.W.) - *Arch. intern. Pharmacodyn.*, 1961, 133, 347-64.

12 - BASTIDE (P.), BAUDON (J.), DASTUGUE (G.), REBIERE (J.P.) - *Ann. Biol. Clin.* , 1960, 18, 307-311.

13 - BAUER (L.), MAHAJANSHETTI (C.S.) - *J. Heterocycl. Chem.*, 1967, 4,(3), 325-34.

14 - BEHRENS (B.) - *Arch. f. Path. u. Pharm.*, 1929, 140, 237.

15 - BEHRENS (B.), KARBER (G.) - *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 1935, 147, 379.

16 - BELLAMY (L.J.) - *The infra red spectra of complex molécules*, London, Methuen and Cie Ltd, 1964.

17 - BERGMANN (F.), WURZEL (M.) - *Biochim.et Biophys. Acta*, 1953, 12, 412-15.

18 - BERNHEIM (M.L.C.) - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, 120 (1), 186-91.

19 - BLATT (A.H.) - *Organic synthesis*, 1943, 2, 165.

20 - BOISSIER (J.R.) *Actual. Pharmacol.*, 1959, 12, 1-69.

21 - BOISSIER (J.R.) -, SIMON (P.) - *Thérapie*, 1960, 15, 1170.

22 - BOISSIER (J.R.), SIMON (P.) - *Arch. int. Pharmacod.*, 1964, 147, 372.

23 - BOISSIER (J.R.), SIMON (P.), LWOFF (J.M.) - *Thérapie*, 1964, 19, 571-583.

24 - BOISSIER (J.R.), TARDY (J.), DIVERRES (J.C.) - *Med. Exp.*, 1960, 3 , 81-84.

25 - BONFILS (S.), FERRIER (J.P.), CAULIN (CH.) - *Rev. franç. Etud. Clin. Biol.*, 1966, 11 , 343-356.

26 - BROCHANN-HANSEN (E.), SCHMID (P.), BENMAMAN (J. D.) - *J. Pharm. Sci.*, 1965, 54 (5), 783-784.

27 - BULBRING (E.B.), WAJDA (J.) - *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1945, 85, 78-84.

28 - BURGEN (A.V.) - *J. of Pharmacol.*, 1949, 4 , 185.

29 - BUU-HOI (N.P.), GILLET (Cl.), GAUTIER (M.), THIRIAUX (J.), LAMBELIN (G.), M EES (G.) - *Chem. Ter.*, 1967, 2 (1), 39-48.

30 - BUU-HOI (N.P.), XUONG (N.D.), HOANG NAM (N)- *Compt. rend.*, 1953, 236, 635-7.

31 - BYERS (B.R.), POWELL (M.V.), LANKFORT (C.E.) *J. Bacteriol.*, 1967, 93 (1), 286-94.

32 - CABAUD (P.G.), WROBLEWSKI (F.) - Amer. J. Clin. *Path.*, 1958, 30, 234.

33 - CAMPBELL (Gag E.S.), RICHTER (W.) - *Acta. pharmacol et toxicol.*, 1967, 25, 345-363.

34 - CHARLIER (R.), PROST (M.), BINON (F.), DELTOUR (G.) - *Arch. int. Pharmacod. Therap.*, 1961, 134, 306.

35 - CARONNA (G.), MAGGIO (F.) - *Gazz. chim. ital.*, 1953, 83, 527-32.

36 - CASSIDY (R.M.), RYAN (D.E.) -*Can. J. Chem.*, 1968, 46(2), 327-30.

37 - CHAUVEAU (A.), MATHIS (F.) - *Compt. Rend.*, 1965, 261 (2), 481-3.

38 - CHWADA, KEN. - *J. Nucl. Sci. Technol.*, 1968, 5 (4), 163-7.

39 - COCEA (E.), GRIGORAS (M.) and TUTOVEANU (M.) - *Bul. Inst. Politech. Iasi*, 1965, 11 (1-2), 159-63.

40 - COHEN (Y.) - *Conf. J. Pharm. Fr.*, 1956.

41 - COLONNA (M.), RUNTI (C.) - *Gazz. Chim. ital.* - 1952, 82, 513-15.

42 - COOLEY (J.H.), BILLS (W.M.), THROCKMORTON - *J. Org. Chem.*, 1960, 25, 1734-6.

43 - COOLEY (J.H.), THROCKMORTON (J.R.), BILLS W.D. -*J. Org. Chem.*, 1962, 27, 3131-4.

44 - CORNAZ (J.P.), DEUEL (H.) - *Experientia*, 1954, 10, 137-8.

45 - COURVOISIER (S.) - *J. Clin. exp. Psychopath.*, 1956, 17 , 25.

46 - COURVOISIER (S.), DUCROT (R.), JULOU (L.) - *Psychotropie Drugs*, Milan, 1957, Elservier Ed., 373.

47 - COUTTS (R.T.)- *Can. J. Pharm. Sci.*, 1967, 2 (2), 27-36.

48 - COUTTS (R.T.), HINDMARSH (K.W.) - *Can. J. Pharm. Sci.*, 1966, 1 (1), 11-17.

49 - COUTTS (R.T.), PITKETHLY (W.N.), WIBBERLEY (D.G.) - *J. Pharm. Sci.*, 1965, 54 (5), 792-5.

50 - COUTTS (R.T.), SMITH (E.M.) - *Can. J. Chem.*, 1967, 45 (9), 975-81.

51 - CSTASZYNSKI, PLENKIEWICZ (H.), URBANSKI (T.)- *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. Sci. Chim.*, 1967, 15 (6), 239-47.

52 - DANIELI (B.), MANITTO (P.), RUSSO (G.) - *Chim. Ind.*, 1968, 50 (5), 553-5.

53 - DASTUGUE (G.), BAUDON (J.), BASTIDE (P.), REBIERE (J.P.) - *Trav. Soc. Pharm.*, Montpellier, 1960, 20, 249-254.

54 - DAVENPORT (J.B.) - *Chemistry and Industry*, 1955, 705-6.

55 - DE VRIES (J.X.), BERETERVIDE (K. V.) - *Nature*, 1961, 1961, 171.

56 - DUTTA (R.L.), CHATTERJEE (B.) - *J. Indian Chem. Soc.*, 1967, 44 (9), 780-6.

57 - DUTTA (R.L.), GHOSH (S.) - *J. Indian. Chem. Soc.*, 1967, 44 (5), 377-80.

58 - DUTTA (R.L.), GHOSH (S.) - *J. Indian Chem Soc.*, 1967, 44 (10), 820-7.

59 - DZIOMKO (V.D.), VSES (T.R.) - *Inst. Khim. Reaktivovi*, 1965, 27ç336-53.

60 - ECKSTEIN (Z.), DOMINIAK (Z.), *Roczniki Chem*, 1954, 28, 139-44.

61 - ECKSTEIN (Z.), SAK (M.) - *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Sci. Chim.*, 1966, 14 (10), 745-50.

62 - EDELSON (J.), SCHLESSER (A.), DOUGLAS (J.F.) *Biochem. Pharmacol.*, 1968, 5, 779-85.

63 - EIDEN (F.), SEEMANN (W.), NOGAR (B. S.) - *Arch. Pharm.*, 1967, 300 (7), 615-22.

64 - ELLIOT (W.H.) - *Biochim. et Biophys. Acta*, 1955, 17, 440-1.

65 - EL'PINER (I.E.), SOKOL'SKAYA (A.V.), BRAGINSKAYA (F.I.) - *Zh. Evol. Biochim. Fiziol.*, 1968, 4 (4), 317-22.

66 - Enzyme Nomenclature, Elsevier publishing company, Amsterdam London, N.Y., 1965.

67 - EPSTEIN (J.), CANNON (P.L.), MICHEL (H.O.) HACKLEY (B.E.) - *J. Amer, Chem. Soc.*, 1967, 89 (12), 2937-43.

68 - EPSTEIN (M.A.), FREEMAN (G.), D'AGROSA (L.S.) DULZ (L.) - *Proc. Soc. Exp. M. Biol. Med.*, 1956, 92, 660-2.

69 - EXNER (O.) - *Collection Czech. Chem. Commun.*, 1965, 30 (12), 4078.

70 - EXNER (O.), BENN (M.H.), WILLIS (F.) - *Can. J. Chem.*, 1968, 46 (11), 1873-80.

71 - EYRAUD (H.) - *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1968, 108-9.

72 - FISHMAN-GOLDENBERG (V.) , SPOERRI (P.E.) - *Annal. Chem.*, 1959, 31, 1735-7.

73 - FIUME (L.) - *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1959, 35, 236-40.

74 - GALE (G.R.) - *Cancer Res.*, 1966, 26 (11), 2340-8.

75 - GALE (G.R.) - *Experientia*, 1968, 24 (1), 57-8.

76 - GALE (G.R.), HYNES (J.B.) - *J. Med. Chem.*, 1968, 11 (1), 191-4.

77 - GALE (G.R.), SMITH (A.B.) - *Experientia*, 1968, 24 (2), 194-5.

78 - GARDNER (T.S.), WENIS (E.), SMITH (F.A.) - *J.Am. Chem. Soc.*, 1951, 73, 5455-6.

79 - GAUTRELET (J.) - *Eléments techniques de Physiologie*, Masson, Paris, 1932, 255.

80 - GEHLMANN (F.), WOLF (F.) - *Chem. Tech.*, 1966, 18 (1), 39-41.

81 - GHOSH (N.N.), BHATTACHARYYA (A.) - *J. Indian Chem. Soc.*, 1967, 44(11), 972-4.

82 - GHOSH (N.N.), DILIPKUMAR (S.) - *J. Indian Chem. Soc.*, 1968, 45 (6), 550-1.

83 - GILBERT (G.), WAGNER-JAUREGG (T.), STEINBERG (G.M.) - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1961, 93 , 469-473.

84 - GORLOVSKII (S.I.), KHOBOTOVA (N.P.), SHCHUKEINA (N.E.) - Vses. Soveshch. po. Sintetich. Shirozamenitelyan, Poverkhnostnoaktim, Veschestwam i Morjushchim Sredstwam, 1965, 3, 297-9, cf. C.A. 1967, 4983 G.

85 - GOVINDACHARI (T.R.), NAGARAJAN (K.), RAJAPPA (S.), AKERKAR (A.S.), IYER (V.S.) - *Tetrahedron*, 1966, 22 (10), 3367-72.

86 - GOVINDACHARI (T.R.), RJAPPA (S.), AKERKAR (A.S.) IYER(V .S.) - *Tetrahedron*, 1967, 23 (12), 4811-15.

87 - GRINSTEINS (V.), *Latvijas PSR Zinatnu Akad-Vestis*, 1949, 2 (19), 65-80.

88 - GROSSOWICZ (N.), WAINFAN (E.), BOREK (E.), WAELSCH (H.) - *J. Biol. Chem.*, 1950, 187, 111-25.

89 - GUAGNINI (O.A.), VONESCH (E.E.) - *Annales asoc. quim. argentina*, 1953, 41, 78-82.

90 - GUAGNINI (O.A.), VONESCH (E.E.) - *Mikrochim. Acta*, 1954, 211-12.

91 - HALWEG (H.), KRAKOWKA (P.) - *Gruz'lia*, 1956, 24, 233-8.

92 - HARINATH (B.), BABU, VENKOB RAO (S.) - *J. Technol.*, 1967, 5 (10), 327-8.

93 - HASE (J.), KOBASHI (K.) - *J. Biochem.*, 1967, 62(3), 293-9.

94 - HASE (J.), KOBASHI (K.), KUMAKI (K.) - *Chem. Pharm. Bull.*, 1967, 15 (4), 534-6.

95 - HATANO (M.), NOSE (Y.), NOZAWA (T.), KAMBARA (S.) - *Kogyo Kagahu Zasshi*, 1966, 69 (3),571-3.

96 - HEILBRON (L.) ; BUNBURG (H.M.) - Dictionary of Organic compounds, London, 1953.

97 - HENDERSHOT (L.C.), FORSAITH (J.) - *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 1959, 237, 125.

98 - HERMANSEN (K.) - *Second. Scond. Meeting of Biochemistry Medical Chemistry, Pharmacology and Physiology, Abo*, 1959.

99 - HERMANSEN (K.) - *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 1960, 17, 277-78.

100 - HEYWANG (R.), KOSTANECKI (J.V.) - *Ber.*, 1902, 35, 2887.

101 - HILLEBRECHT (J.) - *Arzneim. Forsch.*, 1954, 4, 607.

102 - HILLMANN (G.), BERGER (G.), WEIDEMANN (G.)- *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, 1968, 6 (4), 324-5.

103 - HOARE (D.G.), OLSON (A.), KOSHLAND (D.E.) - *J. Amer. Chem. Soc.*, 1968, 90 (6), 1938-43.

104 - HOFMAN (J.), HOFMANOVA (O.),- *European J. Biochem*, 1969, 8, 109-112.

105 - HUIDOBRO (M.) - *Rev. Path. Gen. Physy. Clin.*, 1956, 676, 489.

106 - HUISGEN (R.), SAVER (J), STURM (M.J.), MARKGRAF (J. M.) - *Chem. Bu.*, 1960, 93, 2106.

107 - HURD (C.D.), BAUER (L.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, 73, 4387-90.

108 - HURD (C. D.), BUESS (C. M.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, 73, 2409-12.

109 - HURD (C.D.), BUESS (C. M.), BAUER (L.) - *J. Org. Chem.*, 1952, 17, 865-76.

110 - INOUE (Y.), NODA (M.) - *Ibid, J.*, 1950, 294-8.

111 - IRWIN (S.) - Multidimensional Screening Evaluative Procedures. Lecture presented at *the Gordon Research Conference on medicinal chemistry*, New London, N.H., 1959.

112 - IRWIN (S.) - Drug screening and evaluative procedures Science, 1962, 136, 123-28.

113 - IVALDI (G.), PONTREMOLI (S.) - *Boll. Soc. ital. Biol. Sper.*, 1955, 31, 172-4.

114 - JACOB (J.), BLOZOVSKI (M.), ECHIMARD-GARIN (P.) - *Therapie*, 1958, 13, 17-29.

115 - JENCKS (W.P.), CAPLOW (M.), GILCHRIST (M.), KALLEN (R. G.) - *Biochemistry*, 1963, 2 (6), 1313-20.

116 - JORGEN TORMOD (N.), ELMING (N.), CLAUSON-KAAS (N.) - *Acta Chem Scand.*, 1955, 9, 30-3.

117 - KARBER (G.) - *Arch. f. Path. U. Pharm.*, 1931, 162,480.

118 - KAWAMURA (M.), SADAHARU (E.S.), KOVALEVA (G.K.), GNUCHEV (N. V.) - *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, 1967, 8, 1823-9.

120 - KIERSTEAD (R.W.), FARAONE (A.), GOLDBERG (M. W.) - *J. Med. Chem.*, 1963, 6, 77-9.

121 - KOJI NAKANISHI - Infra red absorption Spectroscopy, Practical, Holden, Day. Inc. San Francisco and Nankado, company limited Tokyo, 1964.

122 - KNAFFL-LENZ - *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1926, 26,407.

123 - KNEIP (P.) - *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1960, 126, 238-245.

124 - KNUNYANTS (I.L.), DYATKIN (B.L.), GEVORKYAN (A. A.) - *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.*, 1966, 8, 1377-82.

125 - KOBASHI (K.), HASE (J.) - *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, 65, 380-3.

126 - KOCHETKOV (N. K.), BUDOVSKII (E. I.), DOMKIM (V. D.) - *M. M. Biol.*, 1967, 1 (4), 558.

127 - KOCHETKOV (N. K.), BUDOVSKII (E. I.), KHOMUTOV (R.M.), KARPEISKII (M. M.) - *Shur. Obshchei Khim.*, 1959, 29, 635-42.

128 - KOZLOV (M.), GRIGOR'EVA (N.E.), STRIZHOVA (L. N.) - *Izv. Vyssh. Ubheb. Zaved. Khim. Tekhnol.*, 1966, 9 (4), 591-4.

129 - KOSTER (R.), ANDERSON (M.), DE BEER (E.J.) - *Fed. Proc.*, 1959, 18, 412.

130 - KRIVENCHUK (V.E.), PETRUN'KIN (V.E.) - *Ukr. Khim. Zh.*, 1967, 33 (1), 66-7.

131 - LAMBELIN (G.), BUU-HOI (N.P.), MESS (G.), THIRIAUX (J.), HURIAUX (M.) - *Med. Pharmacol.*, 1966, 15, 545-54.

132 - LANGENDORFF (O.) - *Arch. Ges. Physiol.*, 1895, 61, 291.

133 - LEBRETON (S.), CARRAZ (G.), MEUNIER (H.). BERIEL (H.) - *Thérapie*, 1964, 19, 451.

134 - LESPAGNOL) - Thèse Doct. Med. Paris, 1956.

135 - LESPAGNOL (A.) - Quelques aspects de la Chimie des médicaments. Masson Ed., Paris 1966.

136 - LEVINTOW (L.), MEISTER (A.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, 3039-40.

137 - LISA (L.), PRAT (S.),- *Biol. Plant.*, 1966, 8 (6),476-8.

138 - LOTLIKAR (P.D.) - *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, 170, 468-471.

139 - LUKNITSKI (F. I.), VOVSI (B.A.) - *Zh. Org. Khim.*, 1967, 3 (8), 1499-50.

140 - LUK'YANOV (V.B.), SIMOWOV (E.F.) - *Dokl. Vses. Sovesheh. Plan. Eksp.*, 1964, 1, 235-51.

141 - MACHT (D.L.), BARBA-GOSE (J.) - *J. Amer. Pharm., Ass.*, 1931, 20, 558.

142 - MAJER (J.), PIKULIKOVA (Z.), SPRINGER (V.) - *Acta Fac. Pharm. Bohemoslov.*, 1966, 17, 131-64.

143 - MAGNUS - *Arch. of Physiol.*, 1904, 102, 123 et 349.

144 - MASAO (I.), MANUBA (F.), MAKIKO (S.), ASTUKO (M.) - *Chem. Pharm. Bull.*, 1968, 16 (4), 622-5.

145 - MATHIS (F.) - *Compt. rend.*, 1950, 231, 357-9.

146 - MATHIS (F.) - *1951, 232, 505-7.*

147 - Mc CREADY (R.M.), REEVE (R.M.) - *J. Agr. Food Chem.*, 1955, 3, 260-2.

148 - MEISTER (A.), LEVINTOW (L.), GREENFIELD (R.E.) ABENDSCHEIN (P. A.) - *J. Biol. Chem.*, 1955, 215, 441-60.

149 - METCALFE (L.D.), SCHMITZ (A.A.) - *Anal. Chem.*, 1961, 33 (3), 363.

150 - MEUNIER (H.), CARRAZ (G.), MEUNIER (Y.), EYMARD (P.), AIMARD (M.) - *Thérapie*, 1963, 18, 435.

151 - MISUKAMI (S.), NAGATA (K.) - *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 1966, 14 (11), 1249-55.

152 - MISUKAMI (S.), NAGATA (K.) - *Coord. Chem. Rev.*, 1968, 3 (2), 267-78.

153 - MORITANI (I.), MURAHASHI (S.), MASAKI (N.), YAMAMOTO (Y.), ITOH (K.), MATAGA (N.) - *J. Amer. Chem. Soc.*, 1967, 89 (5), 1259.

154 - MOSTAFA (I.Y.), ZAYED (S.), FARGHALY (M.),- *Arch. Mikrobiol.*, 1966, 55 (6), 342-5.

155 - MOUKTAR (A.) - *C.R. Biol.*, 1909, 66, 18A.

156 - NAGARAJAN (K.), RAJAPPA (S.), IYER (V.S.) - *Tetrahedron*, 1967, 23 (2), 1049-54.

157 - NAGATA (K.), MISUKAMI (S.) - *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 1966, 14 (11), 1255-62.

158 - NAGATA (K.), MIZUKAMI (S.) - *Chem. Pharm. Bull.* 1966, 14 (11), 1263-72.

159 - NAGATA (K.), MISUKAMI (S.) - *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 1967, 15 (1), 61-9.

160 - NAZAROVA (I.P.), GLUSKENKOWA (A.I.), MARK-MAN (A.L.) - *Uzb. Khim. Zh.*, 1967, 11 (2), 20-3.

161 - N ..... Brevet allemand (Bayer), 6.607.765

162 - N ..... Brevet allemand (Ciba) n° 1.134.387.

163 - N ..... Brevet américain (Berger) n° 3.342.678

164 - N ..... Brevet américain (Carrara) n° 2.929.836.

165 - N ..... Brevet américain (Demek) n° 3.068.072

166 - N ..... Brevet américain (Du Pont de Nemours) n°3.374 260.

167 - N ..... Brevet américain (Dreyfuss) n° 3.190.800.

168 - N ..... Brevet américain (Fetscher) n° 3.367.959.

169 - N ..... Brevet américain (Goldberg) n° 3.398,180.

170 - N ..... Brevet américain(Kaczka) n° 3.282.986.

171 - N ..... Brevet américain (Kwart) n° 667.397.

172 - N ..... Brevet américain (Lehr) n° 3.364.110.

173 - N ..... Brevet américain (Malec) n° 3.328.138

174 - N ..... Brevet anglais (Fisons) n° 1.032.362.

175 - N ..... Brevet anglais (Fisons) n° 1.048.936.

176 - N .....Brevet anglais (Powder) n° 965.054

177 - N ..... Brevet anglais (Powder) n° 992.379

178 - N ..... Brevet Belge (Buu-Hoï) n° 661.226

179 - N ..... Brevet français (Du Pont de Nemours) n°1.467.548.

180 - N ..... Brevet français (Kuhlmann) n° 1.461.338.

181 - N ..... Brevet français (Sandoz) n° 1.434.542.

182 - N ..... Brevet japonais (Akira) n° 6.718.620

183 - N ..... Brevet japonais (Hajime) n° 6.724.587

185 - N ..... Brevet japonais (Seiyaku) n° 10.486

186 - N ..... Brevet suisse (Siegfried) n°440.314

187 - N ..... Brevet tchécoslovaque n° 122.723

188 - NEILANDS (J.B.) - *Struct. Bonding*, 1966, 1, 59-108.

189 - NERY (R.) - *Analyst*, 1966, 91 (1083), 388-94.

190 - NOBLE (D.), WIBBERLY (D.G.) - *J. Med. Chem.*, 1966, 9, 974-76.

191 - NODINE (J.), SIEGLER (P.) - Animal and clinical Pharmacologic Technique in drug évaluation, 1966, 1, 36.

192 - NORMANT (H.), CUVIGNY (T.), *Bull. Soc. Chim.*, 1965, 6, 1867.

193 - NOZAWA (T.), NOSE (Y.), HATANO (M.), KAMBARA (S.) - *Makromol. Chem.*, 1968, 112, 73-83.

194 - NOZAKI (H.), HAMADA (H.) - *Japan Analyst*, 1954. 3, 397-8.

195 - OESTERUD (Th.), PRYTZ (M.) - *Acta Chem. Scand.*, 1959, 13, 2114-18.

196 - PAQUETTE (L.A.) - *Tetrahedon*, 1966, 22(1), 25-9 (Brevet américain UPJOHN).

197 - PERRY (S.V.) - *Methods in Enzymology*, 1955, 2, 582.

198 - PILZ (W.) - *Z. Anal. Chem.*, 1963, 193, 338-46.

199 - PILZ (W.) - *Arch. Toxikol.*, 1966, 22 (3), 192-7.

200 - PLIGUIN (S.G.) - *Aptechnoe Delo, 6*, 1957, 6, 22-6.

201 - POHLONDEK-FABINI (R.), LUTHARDT (K.) - *Pharm. Zentralhalle*, 1960, 99, 488-92.

202 - PUYARDARSHINI (U.), TANDON (S.G.) - *J. Chem. Eng.*, 1967, 12 (1), 143-4.

203 - RAJAPPA (S.), NAGARAJAN (K.), IYER (V.S.) - *Tetrahedron*, 1967, 23 (12), 4805-9.

204 - Règle de nomenclature pour la chimie organique. Société chimique de France, 1968, p. 198.

205 - REGNIER, *C.R. Acad. Sci, (Paris), 1923* 177, 558.

206 - REGNIER (J.) - THèse Doct Med. Paris, 1929.

207 - REITMAN (S.), FRANKEL (S.) - *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 28, 1.

208 - RICHTER (W.), CAMPBELL (Dag.) - *Mect. of Pharmacology* (Scand.), 1962.

209 - ROBERTS (J.D.), CASERA (M.G.) -*Chimie organique moderne*, Trad. p. Edisaince, Paris, 1968, p. 396.

210 - ROE (E.T.), SWERN (D.) - *Anal. Chem.*, 1950, 22, 1160-62.

211 - RONCUCCI (R.), SIMON (M.J.), LAMBELIN (G.), BUU-HOI, THIRIAUX (J.) - *Biochem. Pharmacol.*, 1966, 15, 1563-75.

212 - RONCUCCI (R.), SIMON (M.J.), LAMBELIN (G.), THIRIAUX (J.), BUU-HOI (N.P.) - *Biochem. Pharmacol.*, 1968, 17,(2), 187-94.

213 - ROSSI (G.), BONFILS (S.), LIEFFOGH (F.), LAMBLING (A.) *C.R. Soc. Biol.*, 1956, 150, 2124.

214 - SAFIR (S.R.), WILLIAMS (J.H.) - *J. Org. Chem.*,1952. 17, 1298-1301.

215 - SALVESEN (B.), JOHNSGARD (M.) - *Medd. Norks Farm. Selsk.*, 1966, 28 (10-11), 279-84.

216 - SANDBERG (F.) - *Arzn. Forsch.*, 1959, 9, 203.

217 - SAVINI (E.C.) - *Bull. J. Pharmacol.*, 1956, 11, 313,

218 - SAYER (J.M.), EMERY (T.F.) - *Biochemistry*, 1968, 7, (1), 184-90.

219 - SCHEELE (C.H.), PFEFFERKORN (E.R.) - *Proc. Soc. Biol. Med.*, 1968, 128 (3), 902-4.

220 - SCHMUTZ (J.), LAVENER (H.), HIRT (R.), SANZ(M.)- *Helv. Chim. Acta.*, 1951, 34, 767-779.

221 - SCHWAB (A.W.), COONEY (P.M.), EVANS (C.D.), COWAN (J.C.) - *J. Am. Oil. Chemists Soc.*, 1953, 30, 177-82.

222 - SEVERIN (E.S.), GNUCHEV (N.V.), KHOMUTOV (R.M.) - *Izr. Akad. Nauk. SSSR. Ser. Khim.*, 1967, 6 , 1386-8.

223 - SEVERIN (E.S.), GNUCHEV (N.V.), KOVALEVA (G.K.) GULYAEV (N.N.), KHOMUTOV (R.M.) - Enzymes Model, *Syst. Proc. Int. Symp.*, 1966, 2, 651-62.

224 - SHAW (E.), BERNSTEIN (J.), LOSEE (K.) LOTT (W.A.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, 72, 4362-4.

225 - SIMON (P.) - *Thérapie*, 1965, 20, 1123-1147.

226 - SLAVIK (K.), PLUHAROUA (B.), MATOULKOVA(V.)- *Chem. Listy*, 1954, 48, 1078-81.

227 - SLAVIK (K.) ; SMETANA (R.) - *Chem. Listy*, 1953. 47 , 253-8.

228 - SMITH (H.) - *Imperial Chemical Industries*, 1960, 26, 852.

229 - SOMMERVILLE (R.L.), ELFORD (R.) - *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1967, 28 (3), 437-44.

230 - SRERE (P.A.), LIPMANN (F.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, 4874.

231 - STAAB (H.A.), LUKING (M.), DÜRR (F.M.) - *Chem. Bu.*, 1962, 95, 1275.

232 - STAKHEEVA-KAVERZNEVA (E.D.), SALOVA (A.S.) - *Izvest. Akad. Nauk. SSSR. Otdel. Khim. Nauk.*, 1951, 782-90.

233 - STEFFEN (C.), TIMPL (R.), WOLFF (I.) - *Nature*, 1967, 213 (5075), 497-8.

234 - STREETER (C.L.), FISHBEIN (W.N.) - *J. Chromatogr.* 1968, 32 (2), 424-5.

235 - STRIZHAKOV (O.D.) - *Khim. Pererab. Drev.*, 1967, 2 , 11-12.

236 - TALAFANT (E.), SEVELA (M.) - *Chem. Listy*, 1952, 46, 182-6.

237 - TAKAHASH (H.), KASHIWASE (T.), KURIAMURA(T.) *Yukagahu*, 1967, 15(12), 633-7.

238 - TANDON (S.G.), BHATTACHARYYA (S.C.) -*J. Chem. Eng.*, 1962, 2, 553-5.

239 - TESEZ (M.), POIRIER (T.), BARTOS (J.) - Pratiques de l'analyse organique colorimétrique, p. 167.

240 - THOMPSON (A.R.) - *Australian J. Sci. Research.*, 1950, 3 A, 128-35.

241 - THOMPSON (A.R.) - *Australian J. Sci. Research.*, 1951, B 4, 180-6.

242 - TIPTON (C.L.), KLUN (J.A.), HUSTED (R.R.), PIERSON (M.B.) - *Biochemistry*, 1967, 6 (9), 2866-70.

243 - TRAMS (E.G.) - *J. Lipid Res.* , 1967, 8 (6), 698-9.

244 - TURNER (A.R.) - Screening Methods in Pharmacology, Academic Press. N.Y., 1965, 27-34.

245 - URBANSKI (T.) - *Bull. Acad. polon. sci.*, 1953, 1, 319-23.

246 - URBANSKI (T.), HORNUNG (S.), SLOPEK (S.), VENULET (J.) - *Nature*, 1952, 170, 753-4.

247 - URBANSKI (T,), LEWENSTEIN (W.) - *Roczniki Chem.*, 1952, 26, 565-70.

248 - URBANSKI (T.), LEWENSTEIN (W.) - *Roczniki Chem.*, 1953, 27, 314.

249 - URBANSKI (T.), MALINOWSKI (S.), ZAKRZEWSKI (L.), PIOTROWSKA (H.) - *Roczniki Chem.*, 1953, 27, 47-53.

250 - VALETTE (G.) - *Codex*, 1965, p. 375.

251 - VALETTE (G.), ROUX (M.) - *Thérapie*, 1956, 2, 337.

252 - VISSCHER (F.E.), SEAY (P.H.), TAZELAAR (A.P.), VELDKAMP (W.), VANDER-BROOK (M.J.) -*J. Pharma Exper. Ther.*, 1954, 110, 118.

253 - VLADIMIROVA (T.V.), GAL'BRAIKH (L.S.), ROGOIM (Z.A.), GABRIELYSAN (G.A.) - Iw. Vyssh. Wcheb. Zaved. Khim., *Khim. Tekhnol.*, 1968, 11(5), 594-6.

254 - VONESCH (E.E.), GUAGNINI (A.O.) - *Anales assoc. quim. Argentina*, 1955, 43, 62-6.

255 - VONESCH (E.E.), GUAGNINI (O.A.), GUAGNINI(S.V.)- *Anales assoc. quim. Argentina.*, 1953, 41, 162-5.

256 - WAID (J.S.), PUGH (K.B.) - *Chem. Ind.*, 1967, 2, 71-3.

257 - WIELAND (T.), STIMMING (D.) - *Ann.*, 1953, 579-97 106.

258 - WILSON (I.B.) - *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, 77, 2383-6.

259 - WILSON (I.B.), BERGMANN (F.), NACHMANSOHN(D)- *Ibid.*, 781-90.

260 - WILSON (I.B.), GINSBERG (S.), MEISLICH (E.K.)- *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, 77, 4286-91.

261 - WIMBURG - *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1949, 95, 53.

262 - WINTER (C.A.) - *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1948, 94, 7-11.

263 - WINTERNITZ (F.), WLOTZKA (Ch.) - *Bull. Soc. Chim. France*, 1960, 509-14.

264 - WITKIN (L.B.), HEUBNER (C.F.), and coll. -*J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 1961, 133, 400-408.

265 - WOOLFE (G.), MAC DONALD (A.D.) - *J. of Pharmacol.*, 1944, 80, 300.

266 - YAMAMOTO (T.), NOZAWA (T.), HATANO (M.), KAMBARA (S.) - *Kogyo Kagaku Zasshi*, 1967, 70(5), 760-3.

267 - YAMAMOTO (T.), NOZAWA (T.), HATANO (M.) KAMBARA (S.) - *Kogyo Kagaku Zasshi*, 1967, 70(5), 763-6.

268 - YUKAWA (H.), INOUE (Y.) - *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 1942, 18, 415-18.

269 - YUKAWA (H.), INOUE (Y.) - *Ibid. J.*, 875-8.

270 - YUSUPOVA (N.K.), SARUKHANOV (M.A.) - *Uzb. Khim. Zh.*, 1967, 11 (3), 53-6.

271 - ZAGOREVSKII (V.A.), SYKOV (D.A.), PRONINA (L.P.) *J. of Gen. Chem. of the URSS*, 1959, 29, 1004-1007.

272 - ZAK - *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 383. Méthode adaptée au micro Beckmann.

273 - ZINNER (G.) - *Arch. Pharm.*, 1960, 293, 675-61.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

I- RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES 3

1) Les acides hydroxamiques en Chimie 5
2) Les acides hydroxamiques en Biochimie 18
3) Les acides hydroxamiques en Pharmacodynamie 22
4) Effets biologiques divers 26
5) Usages en industrie 27

II- ETUDE CHIMIQUE 29

1) Matières premières 31
2) Préparation de l'acide chromone carboxylique-2 33
3) Préparation du chlorure d'acide chromone carboxylique-2 36
4) Préparation du chromone carboxylate-2 d'éthyle 38
5) Préparation du chromone carboxylate-2 de méthyl . 43
6) Préparation du méthoxy-7 chromone carboxylate-2 d'éthyle 45
7) Préparation de l'acide chloro-6 chromone carboxylique-2 46
8) Préparation du chloro-6 chromone carboxylate-2 de méthyl 48
9) Propriétés de l'acide chromone hydroxamique-2 49
10) Propriétés de l'acide chloro-6 chromone hydroxamique-2 51
11) Spectres infra-rouges 52

III- ETUDE PHARMACODYNAMIQUE EXPERIMENTALE 59

A - Etude toxicologique

1) Détermination de la dose léthale 50 par voie intrapéritonéale chez la souris 61
2) Détermination de la dose minimum mortelle 68
3) Etude sur le comportement des souris 70

B - Etude pharmacologique

1) Recherche d'une activité sédative 78
2) Recherche d'une activité antidépressive 81
3) Recherche d'une activité anesthésique locale 83
4) Recherche d'une activité anti-algique 86
5) Recherche d'une activité anti-inflammatoire 92
6) Recherche d'une activité parasympatholytique 96
7) Recherche d'une activité spasmolytique *in vivo* 98
8) Recherche d'une activité spasmolytique *in vitro* 100
9) Recherche d'un pouvoir hypocholestérolémiant 104
10) Recherche d'un effet anti-ulcéreux 107
11) Recherche d'une activité sur la tension artérielle chez le lapin 109
12) Recherche d'un effet sur le coeur isolé de lapin après perfusion 111
13) Recherche d'une activité vasoconstrictrice locale 113
14) Recherche d'un effet anti-convulsivant 116
15) Recherche d'une activité diurétique 119
16) Recherche d'une activité anti-histaminique 120
17) Recherche d'une activité anti-tussive 122

IV-ETUDE ENZYMOLOGIQUE 127

1) Activité lactate déshydrogénasique 131
2) Activité transaminasique 133
3) Activité adénosine triphosphatasique 135
4) Recherche d'une activité hépato-protectrice 137

CONCLUSIONS 141

BIBLIOGRAPHIE 145